Die Zersetzung von Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure und Glykokoll durch Schimmelpilze.

3. Mitteilung[1]).

Von **Alexander Kossowicz.**

Zu den hier mitgeteilten Versuchen wurden die nachfolgenden Pilze herangezogen: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und ein roten Farbstoff bildendes Fusisporium (Fusarium). In Verwendung kamen wie zu allen früheren Versuchen Erlenmeyerkölbchen aus Jenaer Kaliglas, die mit je 50 ccm steriler Nährlösung beschickt wurden. Die im Titel genannten Verbindungen wurden in entsprechender Menge jedem einzelnen Erlenmeyerkölbchen besonders zugewogen. Die Übertragung der Pilze in die Versuchskolben geschah aus gut entwickelten Reinzuchten auf in Eprouvetten befindlichen Kartoffelstreifen. Versuchsdauer 6 Wochen. Versuchstemperatur ca. 20° C.

I. Harnstoff als alleinige Kohlenstoff- und gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Harnstoff, 1 g KNO_2, 1 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Die zehn Pilze kamen darin nicht zur Entwicklung.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 6 g Harnstoff, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Die zehn Pilze zeigten keine Entwicklung.

3. Versuch. Die Nährlösung bestand aus: 1000 ccm destilliertes Wasser, 1 g Harnstoff, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$

[1]) S. auch Zeitschrift für Gärungsphysiologie, 1912, Bd. 1, S. 60, 121, 317 und Bd. 2, S. 51, dort auch die einschlägige Literatur.

und $FeCl_3$. Abgesehen von einer geringfügigen Flockenbildung in den Zuchten von Penicillium brevicaule und Fusisporium kam es in dieser Nährlösung zu keiner Entwicklung der Schimmelpilze.

Nach den hier mitgeteilten Versuchen wäre die Schlußfolgerung berechtigt, daß die von mir untersuchten Schimmelpilze, wenigstens unter den von mir beobachteten Versuchsbedingungen Harnstoff als alleinige Kohlenstoffquelle und natürlich auch als alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle nicht verwerten können. Der Befund von Klebs[1]) bezüglich der Verwendbarkeit von Harnstoff als gemeinsame alleinige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle für Saprolegnia bedarf der Nachprüfung unter geänderten Versuchsbedingungen; mir stand dieser Pilz nicht zur Verfügung.

2. Harnsäure als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Harnsäure, 1 g KNO_2, 1 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g $MgSO_4$, 0,5 g KH_2PO_4, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Harnsäure, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

In beiden Versuchen zeigten von den untersuchten Pilzen Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Phytophthora infestans, Aspergillus glaucus und Isaria farinosa deutliche, ziemlich gute Entwicklung, in der zweiten Versuchsreihe kräftige Ammoniakbildung. Diese Pilze vermögen also jedenfalls Harnsäure auch als alleinige Kohlenstoff- und unter Ammoniakbildung als alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle auszunützen.

3. Hippursäure als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung bestand aus: 1000 ccm Leitungswasser, 4 g Hippursäure, 1 g KNO_2, 1 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g K_2HPO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

2. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Hippursäure, 0,5 g KNO_2, 2 g NH_4Cl, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

---

[1]) G. Klebs, Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 33, 1899, S. 513.

3. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Hippursäure, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

4. Versuch. Die Nährlösung enthielt nur 2 g Hippursäure, war sonst im übrigen wie im 3. Versuch zusammengesetzt.

5. Versuch. Die Nährlösung war wie im 3. Versuch zusammengesetzt, enthielt aber nur 1 g Hippursäure.

In allen fünf Versuchen zeigten eine sehr gute Entwicklung (meist auch Fruktifikation): Botrytis Bassiana (rosenrote Färbung der Nährlösung), Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger (gelblichbraune Färbung der Nährlösung), Isaria farinosa und Fusisporium; hingegen wiesen Mucor Boidin und Penicillium brevicaule nur geringfügige Flockenbildung auf.

In den Nährlösungen, die nur Hippursäure als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle enthielten, zeigten alle oben genannten Pilze kräftige Ammoniakbildung.

Jedenfalls sind diesen Versuchen zufolge zahlreiche Pilze befähigt, Hippursäure auch als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu verarbeiten.

4. Glykokoll als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Glykokoll, 1 g KNO_2, 1 g NH_4Cl, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Glykokoll, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

In allen Versuchskolben trat gute Entwicklung und Ammoniakbildung auf.

Alle zehn eingangs erwähnten Pilze zeigten gute Entwicklung und Fruktifikation. Sie vermögen also Glykokoll auch als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle unter Ammoniakbildung auszunützen.

Über die Verwendbarkeit von Harnstoff und Harnsäure als Kohlenstoffquellen werden noch weitere Untersuchungen ausgeführt.

Die Assimilation von Guanin und Guanidin durch Schimmelpilze.

1. Mitteilung.

Von **Alexander Kossowicz.**

Guanin ist ein wichtiger Bestandteil des wertvollen Düngemittels Guano, Guanidin entsteht nach Ulpiani u. Cingolani[1]) durch Bakterientätigkeit aus dem Guanin und wurde von vielen Forschern auch in verschiedenen Käsesorten angetroffen[2]). Untersuchungen über das Verhalten von Mikroorganismen zu diesen zwei Verbindungen bieten abgesehen vom rein physiologisch-botanischen auch einiges Interesse vom landwirtschaftlich-bakteriologischen und im Hinblick darauf, daß Guanin als Bestandteil der Bakterienzelle und der Hefen aufgefunden wurde, auch vom gärungsphysiologischen Standpunkte[3]). Bezüglich des Verhaltens von Schimmelpilzen zu Guanin und Guanidin besitzen wir nur sehr wenige vereinzelte Befunde[4]). So hat Czapek[5]) festgestellt, daß Aspergillus niger salzsaures Guanidin als Stickstoffnahrung verwerten kann. Dieser Befund wurde kürzlich für diesen Pilz von K. Puriewitsch[6]) bestätigt. Bei Einbringung von Erde in Nährlösungen, die Guanidin carbonic. enthielten, konnte Bierema[7]) keine Entwicklung von Schimmelpilzen wahrnehmen, dagegen zeigte sich[8]) in

[1]) C. Ulpiani und M. Cingolani, Atti della Accad. dei Lincei, Roma, t. 14, 1905, p. 596. Ref. im Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. 18, 1907, S. 528.

[2]) F. Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, 1910, S. 359. Dort die weitere Literatur.

[3]) Lafars Handbuch der Technischen Mykologie, Bd. 1, S. 246, 249, 253.

[4]) Bez. des Verhaltens der Bakterien und Hefen zu Guanin und Guanidin verweise ich auf W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, 1910, S. 594, E. Duclaux, Traité de Microbiologie, t. 3, S. 2, H. Pringsheim, Biochemische Zeitschrift, Bd. 3, 1907, S. 121 und A. Guillermond, Les Levures, Paris, 1912, p. 113 und 114.

[5]) F. Czapek, Hoffmeisters Beiträge zur chem. Phys. und Path. 1912, Bd. 1, S. 538 u. Bd. 2, S. 547.

[6]) K. Puriewitsch, Biochemische Zeitschrift, Bd. 38, 1912, S. 13.

[7]) St. Bierema, Centralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 23, 1909, S. 678.

[8]) St. Bierema, a. a. O. S. 709.

seinen weiteren Versuchen außer Bacterium putidum und Streptothrix odorifera auch Ustilago longissima in Reinkultur zur Assimilation und Zersetzung des Guanidinkarbonats (mit Kalziumlaktat als Kohlenstoffquelle) befähigt.

Meine Versuche wurden im Erlenmeyerkölbchen aus Jenaer Kaliglas, die je 50 ccm der sterilisierten Nährlösung enthielten, mit den nachfolgenden Pilzen ausgeführt: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium. Guanin und Guanidin wurden in die einzelnen Erlenmeyerkölbchen getrennt eingewogen und blieben größtenteils ungelöst. Versuchsdauer 4 Wochen, Versuchstemperatur ca. 20° C.

I. Guanin als Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanin, 10 g Dextrose, 10 g Saccharose (reinst), 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Alle oben genannten Schimmelpilze zeigten gute Entwicklung.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 3 g Guanin, 10 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Alle oben angeführten Pilze kamen zu einer deutlichen aber schwachen Entwicklung und zeigten Ammoniakbildung. In den Kontrollkolben war Ammoniak nicht nachweisbar.

Alle von mir untersuchten Pilze vermögen Guanin als Stickstoffquelle zu verwerten.

2. Guanidin carbonicum, Guanidin hydrochloricum, Guanidin nitricum und Guanidin rhodanatum als Stickstoffquellen.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanidin carbonicum, 10 g Dextrose, 10 g Saccharose (reinst), 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

2. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 1. Versuch, jedoch mit 2 g Guanidin hydrochloricum.

3. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 1. Versuch, jedoch mit 2 g Guanidin nitricum.

4. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 1. Versuch, jedoch mit 1 g Guanidin rhodanatum.

5. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanidin carbonicum, 10 g Mannit, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

In diesen fünf Versuchen zeigten Aspergillus glaucus und Cladosporium herbarum (das sich immer sehr langsam entwickelt) schwache, die übrigen acht Pilze gute Entwicklung und Ammoniakbildung, sie vermögen also jedenfalls Guanidin-Verbindungen als Stickstoffquelle zu verwerten.

3. Guanin als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanin, 1 g $(NH_4)_2\ HPO_4$, 0,5 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g $MgSO_4$, 0,5 g KH_2PO_4, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Phytophthora infestans und Isaria farinosa zeigten in dieser Nährlösung eine gute, Cladosporium herbarum und Fusisporium eine schwache Entwicklung, die übrigen vier Pilze, abgesehen von geringfügigen Flockenbildungen, keine Entwicklung.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanin, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Phytophthora infestans und Isaria farinosa kamen in dieser Nährlösung zu einer guten Entwicklung und zeigten kräftige Ammoniakbildung, Cladosporium herbarum und Fusisporium wiesen eine schwächere Entwicklung mit deutlicher Ammoniakbildung auf.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen geht also hervor, daß Guanin von Schimmelpilzen als Kohlenstoff- und als Stickstoffquelle unter Ammoniakbildung verwertet werden kann.

Über die Verwendbarkeit von Guanidin-Verbindungen als alleinige Kohlenstoff- und gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle wird eine zweite Mitteilung Näheres bringen. Vorläufig sei nur erwähnt, daß in Nährlösungen mit Guanidin carbonic. als Stickstoffquelle (bei meist alkalischer Reaktion der Nährlösung) bisher, abgesehen von geringfügigen Flockenbildungen, nur negative Resultate erhalten wurden.

Über das Verhalten von Hefen und Schimmelpilzen zu Natriumthiosulfat.

Von **Alexander Kossowicz** und **Walter Loew.**

In Nägelis[1]) im Jahre 1882 erschienenen Untersuchungen über niedere Pilze finden wir auch die ganz allgemein gehaltene, kurze Angabe, daß „Schimmelpilze" auch schwefligsaure und unterschwefligsaure Salze assimilieren. Holchewnikoff[2]) berichtet im Jahre 1889 über eine Reduktion von Natriumhyposulfit (0,5prozentige Lösung) unter Bildung von Schwefelwasserstoff in saurer Lösung bei Luftzutritt durch eine Proteus-Art; diese Zersetzung blieb in neutraler Lösung bei Luftausschluß aus. Hingegen zeigte in Holchewnikoffs Versuchen eine andere Bakterie, Bacterium sulfureum, eine Reduktion von Natriumhyposulfit in saurer Lösung bei Luftabschluß. Auch Petri und Maaßen[3]) fanden mehrere Bakterien befähigt, aus Natriumthiosulfat Schwefelwasserstoff zu entwickeln. Auf die Schwefelwasserstoffbildung aus Thiosulfat durch Hefen machte Beijerinck[4]) aufmerksam. Das Verhalten von B. desulfuricans und B. coli zu Thiosulfat wurde von Saltet[5]) geprüft. Im Jahre 1902 gelang es Nathanson[6]), Natrium-

---

[1]) Nägeli, Unters. über niedere Pilze, München und Leipzig, 1882, S. 67.

[2]) Holchewnikoff, Fortschritte der Medizin, Bd. 7, 1889, S. 201.

[3]) R. J. Petri und A. Maaßen, Arbeiten des Kaiserl. Gesundheitsamtes Berlin, Bd. 8, 1893, S. 348.

[4]) M. W. Beijerinck, Centralblatt für Bakteriologie, 2. Abt., Bd. 6, 1900, S. 194. Th. Bokorny (Centralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 35, 1912, S. 141) hat nach Fertigstellung unserer Arbeit über zwei von ihm ausgeführte Versuche mit Natriumthiosulfat und Hefen berichtet, in denen stets auch Bakterien zahlreich aufkamen. Er gebrauchte Nährlösungen mit 0,5 % und 1 % $Na_2S_2O_3$. Bokorny bemerkte schwachen Schwefelwasserstoffgeruch, dessen Entstehung er aber den in der Nährlösung enthaltenen Bakterien zuschreibt. Wie schon von uns in einer vorläufigen Mitteilung erwähnt wurde (Zeitschr. f. Gärungsphysiologie Bd. 2, 1912, S. 78) und hier eingehender ausgeführt wird, sind aber auch Hefen selbst, zur Schwefelwasserstoffbildung aus Natriumthiosulfat befähigt.

[5]) R. H. Saltet, Centralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 6, 1900, S. 701.

[6]) Nathanson, Mitteil. der zoolog. Station in Neapel, Bd. 15, 1902, S. 655.

thiosulfat assimilierende Bakterien, die auch zur Assimilation der Kohlensäure befähigt waren, in Reinkultur zu erhalten. Er nimmt an, daß die Oxydation des Thiosulfats nicht bis zur Schwefelsäure, nach der Gleichung:

$$Na_2S_2O_3 + H_2O + 4\,O = Na_2SO_4 + H_2SO_4$$

vor sich geht, weil die Alkalinität der Nährlösung unverändert blieb, sondern nur bis zur Di- oder Tri- oder Tetrathionsäure fortschreitet, nach der Gleichung:

$$3\,Na_2S_2O_3 + 5O = 2\,Na_2SO_4 + Na_2S_4O_6.$$

Die Bakterien lagern hierbei in den Zellen keinen Schwefel ab. Doch scheidet sich um die Bakterienkolonien und auf der Oberfläche der Nährlösung elementarer Schwefel ab. Nathanson faßt die Schwefelabscheidung als einen sekundären Prozeß auf.

Auch Beijerinck[1]) konnte zwei Jahre später derartige „Thiobazillen“ isolieren. Beijerinck nimmt an, daß der Schwefelumsatz durch diese Bakterien nach der Gleichung erfolge:

$$Na_2S_2O_3 + O = Na_2SO_4 + S.$$

Nach O. Loew[2]) übt eine 1prozentige Thiosulfatlösung keine Giftwirkung auf Wasserbakterien aus.

Mit dem Verhalten von Schimmelpilzen zu Thiosulfaten (Natrium- und Kaliumthiosulfat) hat sich Raciborski[3]) eingehend beschäftigt. Da unsere hier mitgeteilten Befunde von denen Raciborskis in manchen Punkten abweichen, sie wieder anderseits bestätigen und ergänzen, sollen die Feststellungen dieses Forschers hier näher angeführt werden.

Wie Raciborski hervorhebt, keimen die Sporen verschiedener Pilze in zweiprozentiger $Na_2S_2O_3$-Lösung aus. Asp. niger kam in seinen Versuchen auch in Nährlösungen, die bis 30% $Na_2S_2O_3$ enthielten, zur Entwicklung, zeigte aber keine Fruktifikation. Er fand, daß sich bei diesem Pilz in den wachsenden Hyphenenden und den emporwachsenden Sporenträgern zahlreiche Schwefeltropfen ansammeln, die das weitere Wachstum, die Weiterentwicklung hindern, so daß die vereinzelten Sporenträger es zu keiner köpfchenartigen Anschwellung bringen.

Erwähnt sei nebenbei, daß der eine von Raciborski gebrauchte Nachweis der Schwefelnatur der glänzenden Kügelchen in den Hyphen, der darin besteht, daß die Hyphen in Kalziumnitratlösung gebracht und

---

1) M. W. Beijerinck, Centralblatt für Bakteriologie, 2. Abt., Bd. 11, 1904, S. 593.

2) O. Loew, Ein natürliches System der Giftwirkungen, München 1893, S. 105.

3) M. Raciborski, Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, math. nat. Kl. 1905, S. 764.

dann Bromwasser zugefügt wird, nicht ganz einwandfrei erscheint, weil auch das sehr schwer zu entfernende Thiosulfat durch Bromwasser oxydiert wird und zur Gipsbildung Veranlassung geben kann.

Der Hauptversuch Raciborskis wurde mit Asperg. niger unter Anwendung einer 2prozentigen Kaliumthionatlösung ausgeführt, die aber schon nach der Sterilisation (nach Br. Niklewski, der die chemische Untersuchung ausgeführt hat) Schwefel-, Sulfit- und Sulfatspuren enthielt. Br. Niklewski, dem die chemische Untersuchung der Kulturflüssigkeit oblag, fand in der 12 Tage alten Zucht des Aspergillus niger, der eine kompakte, sterile weißgelbe Decke aufwies, außer reichlichen Mengen von noch unzersetztem Thiosulfat noch eine kräftige extrazellulare Schwefelablagerung, schweflige Säure (bezw. Sulfit) und Schwefelsäure vor. Tetrathionat konnte hingegen von ihm nicht nachgewiesen werden. Raciborski hat dann noch weitere Pilze, ohne aber auch ihre Kulturen einer chemischen Analyse zu unterwerfen, auf ihr Verhalten zu Natriumthiosulfat geprüft. Er fand Schwefelabscheidung und extrazelluläre Abscheidung von Schwefel bei allen von ihm untersuchten Pilzen, d. s. Basidiobolus ranarum, Thamnidium elegans, Phycomyces nitens, Mucor pyriformis, Rhizopus nigricans, Botrytis cinerea, Penicillium crustaceum und Aspergillus niger. Interzellulare Schwefeleinlagerung wiesen nur auf: Rhizopus nigricans, Botrytis cinerea, Penicillium crustaceum und Asperg. niger, nicht aber die vier erstgenannten Schimmelpilze. Eine Bildung von Tetrathionat wurde bei diesen Pilzen von Raciborski (bezw. Niklewski) nicht wahrgenommen.

Sasaki und Ichiro Otsuko[1]) konnten kürzlich gleichfalls bei vielen pathogenen Bakterien die Fähigkeit zur Entwicklung von Schwefelwasserstoff aus Thiosulfat nachweisen. Der Vollständigkeit wegen sei noch erwähnt, daß Lidfores[2]) eine starke chemotaktische Wirkung des Natriumthiosulfats bei einem Thiospirillum beobachtet hat.

Die reduzierende Wirkung des Hefepreßsaftes auf Schwefel und Thiosulfat wurde von Hahn[3]) nachgewiesen.

Wie aus den vorangehenden Darlegungen hervorgeht, verhielten sich in den Versuchen von Raciborski die Schimmelpilze zu Thiosulfat recht verschieden. Nur von der Kultur eines dieser Pilze (Asp. niger) wurde eine nähere Analyse der Schwefelverbindungnn gegeben. Schon

[1]) Sasaki Takaoki und Ichiro Otsuko, Biochemische Zeitschrift, Bd. 39, 1912, S. 208.

[2]) B. Lidfores, Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Bd. 30, 1912, S. 262.

[3]) Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903. S. 341.

die sterilisierte unbeimpfte Kontrollelösung Raciborskis enthielt außer Thiosulfat (Kaliumthiosulfat) noch Schwefel und andere Schwefelverbindungen, so daß es nicht nur von Interesse erschien, auch andere bisher daraufhin noch nicht untersuchte Pilze zu ähnlichen Versuchen heranzuziehen, sondern auch noch die physiologisch gewiß dankbare Frage zu lösen war, ob und in welcher Weise Schimmelpilze und Sproßpilze (Hefen) Thiosulfat überhaupt zu assimilieren vermögen, denn abgesehen von der eingangs erwähnten Angabe Nägelis lagen bisher darüber keinerlei Versuche vor. Tatsächlich gelangten wir auch gelegentlich unserer weiter unten zu besprechenden Versuche zu Befunden, die manches Neue und Unerwartete brachten.

I. Das Verhalten der Hefen zu Natriumthiosulfat.

Zu den Versuchen wurden auf Würzeagar gezüchtete Reinzuchten der nachfolgenden Hefen[1]) verwendet: Saccharomyces ellipsoideus I H., Saccharomyces cerevisiae I H., Saccharomyces apiculatus, Weinhefe Johannisberg II, Hefe Rasse XII und Schizosaccharomyces mellacei.

1. Versuch. Eine sterile Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm dest. Wasser, 3 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 2 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgCl_2$, 2 g NH_4Cl, 1 g KNO_2, eine Spur $FeCl_3$ und $CaCO_3$ zu 50 ccm in Erlenmeyerkölbchen verteilt, wurde mit einer Spur der oben angeführten Hefen geimpft. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen, die Versuchstemperatur ca. 20° C. Nach Verlauf von 2 Wochen zeigten Saccharomyces apiculatus und Schizosaccharomyces mellacei schwache, die anderen ziemlich gute Entwicklung (Depotbildung). Nach Verlauf von 3 Wochen boten die Hefen ungefähr das gleiche Aussehen. In der Nährlösung konnte weder das Vorhandensein von Schwefelsäure, noch (mit Hilfe von Bleipapier) das von Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden, auch wurde keine Schwefelabscheidung bemerkt.

Die nach Verlauf von 3 Wochen ausgeführte Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab in je 10 ccm der Nährlösung den folgenden Verbrauch von $\frac{n}{100}$ Jodlösung, aus dem sich die von den Hefen verbrauchte Menge an $Na_2S_2O_3$ berechnen läßt: Unbeimpfter Kontrollkolben 10 ccm $\frac{n}{100}$ Jodlösung, Sacch. ellipsoideus I H. 8 ccm, Sacch. cerevisiae I H.

[1]) Die von uns verwendeten Hefen wurden aus dem Kralschen Laboratorium bezogen.

9,4 ccm, Saccharomyces apiculatus 9,9 ccm, Weinhefe Johannisberg II 9 ccm, Hefe Rasse XII 9,8 ccm, Schizosaccharomyces mellacei 9,9 ccm.

Nach Durchführung der Titration wurden sterilisierte Bleipapierstreifen in die Versuchskolben eingebracht. Nach 2 bis 3 Tagen zeigten alle Hefen mit Ausnahme des sehr schwach entwickelten Saccharomyces apiculatus und Schizosaccharomyces mellacei Schwärzung des Bleipapiers, also Schwefelwasserstoffbildung.

2. Versuch. Zur Verwendung kam eine Nährlösung von der Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 10 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 20 g Saccharose, 1 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgCl_2$, 2 g NH_4NO_3, 2 g NH_4Cl, eine Spur $FeCl_3$. Die sterilisierte Nährlösung war vollkommen klar. Die sonstige Versuchsanordnung war wie in dem früheren Versuch, nur wurden gleich größere Hefenmengen (1 Platinöse) in die 50 ccm sterile Nährlösung enthaltenden Erlenmeyerkölbchen eingeimpft. Nach Verlauf von 4 Tagen, innerhalb welcher eine ziemlich gute Hefenentwicklung aber ohne sichtbare Kohlensäureentwicklung stattgefunden hatte, wurde die Titration vorgenommen. In allen Versuchskolben konnte nicht bloß mit Hilfe von Bleipapier, sondern schon durch den Geruch Schwefelwasserstoffbildung wahrgenommen werden, deshalb fielen wohl auch die erhaltenen Titrationszahlen in den beimpften Kolben meist höher aus, als in dem unbeimpften Kontrollkolben. Schwefelsäure war in den Nährlösungen nicht nachzuweisen.

Die Titration mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung ergab in je 20 ccm der Nährlösung den nachfolgenden Verbrauch an Jodlösung: Kontrollkolben 8,6 ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung, Sacch. ellipsoideus I H. 8,5 ccm, Sacch. cerevisiae I H. 8,5 ccm, Sacch. apiculatus 8,7 ccm, Weinhefe Johannisberg II 8,7 ccm, Hefe Rasse XII 8,6 ccm, Schizosaccharomyces mellacei 8,7 ccm.

3. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 5 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 1 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $FeCl_3$. Die 6 Hefen zeigten darin nach Verlauf von 4 Wochen schwache Entwicklung und deutliche Schwefelwasserstoffbildung.

Einige weitere Versuche mit Hefen und Natriumthiosulfat ergaben den vorangehenden ähnliche Resultate, weshalb auf sie hier nicht weiter eingegangen wird. Es sei nur hervorgehoben, daß in einer mit der im 2. Versuch verwendeten übereinstimmenden Nährlösung, die aber 5 %

Natriumthiosulfat (50 g) enthielt, innerhalb 5 Wochen eine gute Entwicklung (Depotbildung) von Saccharomyces ellipsoideus I H., Saccharomyces cerevisiae I H., Weinhefe Johannisberg II und Hefe Rasse XII eintrat; die beiden anderen Hefen waren sehr schwach entwickelt. Schwefeleinlagerungen wurden in den Hefezellen in dieser Nährlösung ebensowenig beobachtet, wie in den früher angeführten.

Beijerinck[1]) hat besonders betont, daß Hefen zu einer Reduktion von Sulfaten unter Schwefelwasserstoffbildung nicht befähigt sind. Es erschien uns nun von Interesse zu prüfen, ob unsere eingangs erwähnten Hefenreinzuchten, die eine kräftige Reduktion von Thiosulfat gezeigt hatten, sich ebenso verhalten. Es ist diese Frage auch von einiger Bedeutung für die Praxis der Gärungsgewerbe. Zu diesem Zwecke wurden die nachfolgenden Nährlösungen mit einer Spur der auf Bierwürzeagar gewachsenen Hefen: Saccharomyces ellipsoideus I Hansen, Saccharomyces cerevisiae I H., Saccharomyces apiculatus, Weinhefe Johannisberg II, Hefe Rasse XII und Schizosaccharomyces mellacei geimpft (4. und 5. Versuch).

4. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm Leitungswasser, 4 g Na_2SO_4, 5 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 1 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $FeCl_3$.

5. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 3. Versuch, die jedoch statt Mannit 5 g Dextrose enthielt.

Nach einer Woche zeigten von den im Dunkeln gehaltenen Hefen Sacch. ellips. I H., Sacch. cerevisiae I H. und besonders Weinhefe Johannisberg II und Hefe Rasse XII in den angeführten Nährlösungen (4. und 5. Versuch) eine recht gute Entwicklung und Depotbildung, die zwei anderen Hefen waren nur sehr schwach entwickelt. Sacch. ellipsoideus I H. wies in der Dextrosenährlösung (und zwar nur diese Hefe allein) eine schwach rosenrote Färbung des Depots[2]) auf. Eine Schwefelwasserstoffbildung konnte in den Nährlösungen direkt nicht festgestellt werden. Aber auch eingehängte Bleipapierstreifen zeigten selbst nach Verlauf von weiteren drei Wochen nicht die geringste Verfärbung, während in sonst gleich zusammengesetzten Thiosulfatnährlösungen, besonders bei den besser entwickelten Hefen Saccharomyces ellipsoideus I Hansen, Saccharomyces cerevisiae I Hansen,

---

[1]) M. W. Beijerinck, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 6, 1900, S. 194 (Anmerkung).

[2]) A. Kossowicz, Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich, Bd. 6, 1903, S. 27. Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie, Berlin, 1911, S. 30 und 31.

Weinhefe Johannisberg II und Hefe Rasse XII, schon nach wenigen Tagen intensive Schwarzfärbung der Bleipapierstreifen erfolgt. Wir konnten also den Befund Beijerincks, daß Hefen Sulfate unter Schwefelwasserstoffbildung nicht reduzieren, auch für unsere Hefen bestätigen.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen mit Hefen kann gefolgert werden:

1. Thiosulfate können Hefen als Schwefelnahrung dienen.

2. Die Assimilation erfolgt unter Schwefelwasserstoffbildung. Eine Abscheidung von Schwefel und die Bildung von Schwefelsäure in der Nährlösung konnte nicht beobachtet werden.

3. Eine Schwefelwasserstoffentwicklung aus Sulfat fand durch die von uns benützten Hefen in der von uns beobachteten Versuchsanstellung nicht statt.

II. Das Verhalten der Schimmelpilze zu Natriumthiosulfat.

Die Versuche wurden ausgeführt, indem in je 50 ccm der in Erlenmeyerkölbchen befindlichen sterilen Nährlösung die nachfolgenden Schimmelpilze (Reinzuchten) eingebracht wurden und zwar: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium.

1. Versuch. Eine Nährlösung von der Zusammensetznng 1000 ccm dest. Wasser, 0,2 g $Na_2S_2O_3$, 50 g Handelszucker, 0,1 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,2 g $MgCl_2$ wurde mit den oben angeführten Pilzen geimpft, die nach Verlauf von einigen Tagen gute Entwicklung zeigten. Schwefelwasserstoff- und Schwefelsäurebildung konnte in den Nährlösungen nicht nachgewiesen werden. Versuchsdauer 5 Wochen. Versuchstemperatur 20° C.

2. Versuch. Die Nährlösung bestand aus: 1000 ccm destilliertem Wasser, 2 g $Na_2S_2O_3$, 25 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,2 g $MgCl_2$ und einer Spur $CaCO_3$. Die Pilze zeigten schon nach 2 Tagen bei einer Versuchstemperatur von ca. 20° C deutliche Entwicklung. Bei der während der vierwöchentlichen Versuchsdauer wiederholt vorgenommenen direkten Prüfung der Nährlösung (mit $BaCl_2$ und Bleipapier) auf Schwefelsäure und Schwefelwasserstoff wurde stets ein negatives Resultat erhalten, eingehängtes sterilisiertes Bleipapier wurde innerhalb 48 Stunden nur durch Mucor γ Boidin geschwärzt. Bei der Prüfung mit $BaCl_2$ muß darauf geachtet werden, daß man leicht eine

Trübung der Nährlösung durch Phosphatbildung erhält, die das Vorhandensein von Schwefelsäure in der Nährlösung vortäuscht, weshalb der vorhergehende Zusatz von verdünnter Salzsäure vor Zugabe von Baryumchlorid zur Nährlösung zu empfehlen ist.

3. Versuch. Die Nährlösung hatte die nachfolgende Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 6 g $Na_2S_2O_3$, 25 g Dextrose, 0,1 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 2 g KNO_2, 2 g NH_4NO_3, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die Nährlösung zeigte vor und nach der Sterilisation keine Schwefelwasserstoff- und Schwefelsäurebildung und keine Schwefelablagerung und auch in den Pilzkulturen, die nach einigen Tagen zu einer guten Entwicklung kamen, konnten diese Verbindungen nicht nachgewiesen werden, nur Mucor Boidin hat eingehängtes sterilisiertes Bleipapier nach längerer Zeit gebräunt. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen, die Versuchstemperatur ca. 20° C.

4. Versuch. Die Nährlösung hatte die gleiche Zusammensetzung wie im 3. Versuch, die Versuchsanordnung war die gleiche. Das von den Pilzen verbrauchte Natriumthiosulfat wurde mit Hilfe von $\frac{n}{100}$ Jodlösung bestimmt. Die direkte Prüfung der Nährlösungen auf Schwefelwasserstoff und Schwefelsäure ergab ein negatives Resultat. Interessant erscheint das abweichende Verhalten der einzelnen Schimmelpilze zu Thiosulfat. Die unbeimfte Kontrollösung ergab auf 10 ccm der Nährlösung einen Verbrauch von 22,2 ccm $\frac{n}{100}$ Jodlösung, die Pilze verhielten sich wie folgt:

Botrytis Bassiana: Verbrauch 19,5 ccm $\frac{n}{100}$ J; Differenz 2,7 ccm.

Mucor Boidin: Verbrauch 20,9 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,7 ccm.

Cladosporium herbarum: Verbrauch 20,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,4 ccm.

Penicillium glaucum: 0 ccm $\frac{n}{100}$ J. Nach der Oxydation mit Brom wurde reichliche Bildung von Schwefelsäure nachgewiesen — vor derselben war keine vorhanden — der Pilz verwandelt also das Thiosulfat in Polythionat (Tetrathionat?).

Penicillium brevicaule: verunglückt.

Aspergillus glaucus: 18 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 4,2 ccm.

Aspergillus niger: 0 ccm $\frac{n}{100}$ J. Nach der Oxydation mit Brom wurde reichliche Bildung von Schwefelsäure nachgewiesen —

vor derselben war keine vorhanden — der Pilz verwandelt also das Thiosulfat in Polythionat (Tetrathionat?).

Isaria farinosa: 18,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 4 ccm.

Fusisporium: 22,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,2 ccm.

Die Entwicklung von Penicillium glaucum und Aspergillus niger war eine sehr schwache, die der anderen Pilze eine gute. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Fehlen von Schwefelablagerungen in den Pilzfäden.

Aus diesen vier Versuchen ist wohl schon ersichtlich, daß Pilze Thiosulfat direkt assimilieren können ohne Bildung von Schwefelsäure, Schwefelwasserstoff und ohne Schwefelablagerung, daß Mucor Boidin Schwefelwasserstoff aus Thiosulfat entwickelt, Penicillium glaucum und Aspergillus niger bei den bisher benützten Konzentrationen Thiosulfat zu Polythionaten zu oxydieren vermögen und zwar ohne Bildung von Schwefelsäure (Sulfat).

5. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 g destilliertes Wasser, 6 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4. 2 g KNO_2, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die Reaktion der sterilisierten Nährlösung war schwach alkalisch. Nach Verlauf von 3 Wochen (Versuchstemperatur ca. 20° C) wurden der Verbrauch von Thiosulfat durch die einzelnen Pilze mit Hilfe von $\frac{n}{100}$ Jodlösung in je 10 ccm der Nährlösung und das Pilzgewicht (Pilztrockensubstanz) bestimmt. Vor der Titration war in den Nährlösungen weder Schwefelwasserstoff, noch Schwefelsäure, noch Schwefelablagerung nachzuweisen, die mikroskopische Prüfung ergab das Fehlen von Schwefeleinlagerungen in den Pilzhyphen.

Die zur Titration von 10 ccm Nährlösung verbrauchte Menge an $\frac{n}{100}$ Jodlösung und das Pilzgewicht betrugen:

Kontrollkolben: 20,5 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Botrytis Bassiana: 19,5 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1 ccm; Pilzgewicht 0,07 g.

*Penicillium glaucum: 0,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 20,3 ccm; Pilzgewicht 0,1 g (zeigte nach der Oxydation mit Brom kräftige Schwefelsäurereaktion, bildet also Polythionat [Tetrathionat?]).

Mucor Boidin: 11,7 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 8,8 ccm; Pilzgewicht 0,08 g (eingelegtes Bleipapier erfuhr eine Braunfärbung nach 24 Stunden, der Pilz entwickelt also Schwefelwasserstoff).

Cladosporium herbarum: 19,2 $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,3 ccm; Pilzgewicht 0,3 g.

Penicillium brevicaule: 20,3 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,2 ccm; Pilzgewicht 0,08 g.

Aspergillus glaucus: 20,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,3 ccm; Pilzgewicht 0,3 g.

Aspergillus niger: 0 ccm $\frac{n}{100}$ J; Pilzgewicht 0,04 g (zeigte nach der Oxydation mit Brom kräftige Schwefelsäurebildung, bildet also Polythionat [Tetrathionat?]).

Isaria farinosa: 19,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,9 ccm; Pilzgewicht 0,1 g.

Fusisporium: 20 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,5 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Die zwei Pilze Penicillium glaucum und Aspergillus niger bilden in dieser schwach alkalischen Nährlösung Polythionat (Tetrathionat?), die übrigen Pilze nicht.

6. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 10 g Mannit, 0,5 KH_2PO_4, 4 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die sterilisierte Nährlösung war schwach sauer. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen, die Versuchstemperatur ca. 20° C. In den zwei Zuchten von Penicillium glaucum wurde Schwefelsäure nachgewiesen. Schwefelwasserstoff war in den Nährlösungen nicht vorhanden. Die Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung in 10 ccm der Nährlösung und die Pilzgewichtsbestimmung ergaben die folgenden Resultate:

Kontrollkolben: 16 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Botrytis Bassiana: 14,9 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,1 ccm; Pilzgewicht 0,05 g.

Penicillium glaucum Nr. 1: 13,8 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,2 ccm; Pilzgewicht 0,08 g (Schwefelsäurebildung).

Penicillium glaucum Nr. 2: 10,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 5,4 ccm; Pilzgewicht 0,1 g (Schwefelsäurebildung).

Mucor Boidin: 13,8 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,2 ccm; Pilzgewicht 0,04 g (eingehängte Bleipapierstreifen wurden nach einigen Tagen gebräunt: H_2S-Bildung).

Cladosporium herbarum: 15,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,4 ccm; Pilzgewicht 0,04 g.

Penicillium brevicaule: 15,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,05 g.

Aspergillus glaucus: 15,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,02 g (sehr schwach entwickelt).

Isaria farinosa: 13,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,8 ccm; Pilzgewicht 0,08 g.

Fusisporium: 13,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,6 ccm; Pilzgewicht 0,07 g.

In einzelnen Hyphen von Penicillium glaucum wurden stark lichtbrechende Einlagerungen wahrgenommen, die als Schwefeleinlagerungen gedeutet werden können. Dieser Versuch zeigt, daß unter geänderten Versuchsbedingungen (saure Reaktion der Nährlösung) Penicillium glaucum Thiosulfat statt zu Polythionat zu Schwefelsäure oxydieren kann; die übrigen acht Pilze zeigten dieses Verhalten nicht, wobei aber noch zu bemerken ist, daß die Entwicklung des Aspergillus niger eine außerordentlich schwache (geringe Flockenbildungen) war.

7. Versuch. Zur Anwendung gelangte eine Nährlösung, die bezüglich der Thiosulfatkonzentration mit der von Raciborski, bei der Züchtung von Aspergillus niger in der chemisch näher analysierten Kultur verwendeten, übereinstimmte, sonst aber etwas abwich. Sie hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 20 g $Na_2S_2O_3$, 50 g Saccharose (reinst), 10 g Ammoniumphosphat, 1 g KH_2PO_4, eine Spur $MgCl_2$, $CaCO_3$ und $FeCl_3$. In den sterilisierten Nährlösungen waren weder Schwefelsäure, noch abgelagerter Schwefel, noch Schwefelwasserstoff nachzuweisen. Die Titration von je 10 ccm der einzelnen Nährlösungen mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung und die Untersuchung auf Schwefelsäure ergaben die folgenden Resultate (Versuchsdauer 3 Wochen bei 20° C):

Kontrollkolben: 9,2 ccm $\frac{n}{10}$ J; kein H_2SO_4.

Botrytis Bassiana: 8 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1,2 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

*Penicillium glaucum Nr. 1: 6,2 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 3,0 ccm; H_2SO_4-Bildung; in einzelnen Hyphen Schwefelablagerung.

*Penicillium glaucum Nr. 2: 6,2 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 3,0 ccm; H_2SO_4-Bildung; in einzelnen Hyphen Schwefelablagerung.

Mucor Boidin: 8,7 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,5 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Cladosporium herbarum: 8,4 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,8 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Penicillium brevicaule: 8,9 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,3 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Aspergillus glaucus: 7,6 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1,6 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

*Aspergillus niger: 6,9 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 2,3 ccm; H_2SO_4-Bildung, in einzelnen Hyphen Schwefelablagerung.

Isaria farinosa: 8,5 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,7 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Fusisporium: 8,3 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,9 ccm, kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Die Pilzdecken wurden sehr gut mit Wasser ausgewaschen (es dauert sehr lange bis das Natriumthiosulfat aus dem Pilzgeflecht vollständig entfernt ist), getrocknet, mit Schwefelkohlenstoff verrieben. Nach der Filtration wurde der Schwefelkohlenstoff verdunsten gelassen. Nur Penicillium glaucum und Aspergillus niger ergaben in Übereinstimmung mit dem mikroskopischen Befund einen Schwefelrückstand, der auch unter dem Mikroskop (Lösen in CS_2 und Wiederverdunstenlassen des Lösungsmittels, Kristallformen) als solcher mit Bestimmtheit erkannt werden konnte, die anderen Pilze gaben keinen Schwefelrückstand. Botrytis Bassiana und Aspergillus glaucus zeigten in Schwefelkohlenstoff lösliche Rückstände, die aber bestimmt nicht aus Schwefel bestanden (öliger Natur).

Wir sehen hier bei einer höheren Thiosulfat-Konzentration (2% $Na_2S_2O_3$) und saurer Reaktion der Nährlösung bei den zwei Pilzen Penicillium glaucum und Aspergillus niger Schwefelsäurebildung und Schwefeleinlagerung in einzelnen Hyphen, während diese Pilze bei niedriger Thiosulfat-Konzentration in schwach alkalischer Nährlösung (Versuch 4 und 5) aus dem Natriumthiosulfat Polythionate (Tetrathionat), nicht aber Schwefelsäure bilden.

Alle Pilze hatten in der 2prozentigen $Na_2S_2O_3$-Lösung Fruktifikation gezeigt.

8. Versuch mit 5% $Na_2S_2O_3$. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 50 g $Na_2S_2O_3$, 25 g Dextrose, 0,1 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 2 g KNO_2, 2 g NH_4NO_3, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Nach Verlauf einer Woche zeigten alle zehn Pilze Entwicklung und alle außer Aspergilllus niger Fruktifikation.

9. Versuch mit 10% $Na_2S_2O_3$. Die sonst gleiche Nährlösung enthielt 100 g $Na_2S_2O_3$ in 1000 ccm dest. Wasser. Schon nach 3 bis 4 Tagen kamen alle Pilze zur Entwicklung. Nach einer Versuchsdauer von 14 Tagen (Versuchstemperatur 15—20° C) wurden die Nährlösungen (je 5 ccm) mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung titriert, das Pilzgewicht der einzelnen Pilze bestimmt und die Nährlösungen auf das Vorhandensein von Schwefelwasserstoff und Schwefelsäure geprüft. Aspergillus niger, der am Tage der Untersuchung noch sehr schwach entwickelt war, wurde erst zwei Wochen später, also nach 4wöchentlicher Versuchsdauer untersucht. Er war der einzige Pilz bei dem Schwefelsäurebildung und Schwefelabscheidung in den Hyphen und in der Nährlösung aufgefunden wurde. Die anderen neun Pilze zeigten weder Schwefelwasserstoff- noch Schwefelsäurebildung.

Die Titration von 5 ccm der Nährlösung mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung und die Pilzgewichtsbestimmung ergaben folgende Resultate:

Kontrollkolben: 21,6 ccm $\frac{n}{10}$ J pro 5 ccm Nährlösung.

Botrytis Bassiana: 21,4 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,2 ccm; Pilzgewicht 0,04 g.

Penicillium glaucum Nr. 1: 19 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 2,6 ccm; Pilzgewicht 0,2 g.

Mucor Boidin: 20,6 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Cladosporium herbarum: 20,6 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Penicillium glaucum Nr. 2: 21,0 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Penicillium brevicaule: 20,9 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,7 ccm; Pilzgewicht 0,07 g.

Aspergillus glaucus: 21,4 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,2 ccm; Pilzgewicht 0,2 g.

Aspergillus niger (2 Wochen später untersucht): 17,7 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 3,9 ccm; schwache Entwicklung.

Isaria farinosa: 21,0 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Fusisporium: 21,5 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,1 ccm.

10. Versuch mit 40% $Na_2S_2O_3$. Die Nährlösung hatte sonst die gleiche Zusammensetzung wie im 8. Versuch, nur kamen auf 1000 ccm dest. Wasser 400 g $Na_2S_2O_3$. Nach 3 wöchentlicher Versuchsdauer (Zimmertemperatur) zeigten Penicillium glaucum und Botrytis Bassiana ziemlich gute Entwicklung, Isaria farinosa, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule und Fusisporium schwächere Entwicklung, Aspergillus niger, Aspergillus glaucus und Mucor Boidin keine Entwicklung. Schwefelabscheidung in den Pilzfäden und extrazellular, ferner Schwefelsäurebildung konnte nur bei Penicillium glaucum wahrgenommen werden. Dieser Pilz zeigte kräftige Deckenbildung und Fruktifikation. Schwefelwasserstoffbildung konnte bei keinem der Pilze weder direkt, noch innerhalb drei Tagen an eingehängten sterilisierten Bleipapierstreifen festgestellt werden.

Zwei weitere Versuche wurden ausgeführt, um festzustellen, ob das ungleiche Verhalten von Penicillium glaucum und Aspergillus niger zu Natriumthiosulfat in verschieden zusammengesetzten Nährlösungen tatsächlich von der Reaktion der Nährlösung abhängig sei, oder ob auch die Kohlenstoffquelle eine Rolle spielt.

11. Versuch. Zwei Erlenmeyerkölbchen mit einer Nährlösung von der Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 10 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4, 2 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$ und eine Spur $FeCl_3$ wurden mit Penicillium glaucum, ein Kölbchen mit Aspergillus niger beimpft, ein Kölbchen blieb als Kontrolle

unbeimpft. Zur Titration der 4 Kölbchen, die nach 4 Tagen erfolgte, wurden für 10 ccm der Nährlösung nachfolgende Mengen von $\frac{n}{100}$ Jodlösung verwendet:

Kontrolle: 19,2 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger: 18,8 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 18,4 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 18,7 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Als Versuchstemperatur wurde 15° C gewählt. Die Entwicklung der Pilzzuchten war eine schwache. Schwefelsäure- und Schwefelwasserstoff konnten in den Nährlösungen am Tage der Titration nicht nachgewiesen werden.

12. Versuch. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie im 11. Versuch, nur enthielt die Nährlösung statt Dextrose 10 g Mannit.

Die Titration der sehr schwach entwickelten Zuchten mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab in 10 ccm der Nährlösung:

Kontrolle: 19,8 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger: 19,6 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 19,5 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 18,5 ccm $\frac{n}{100}$ J (besser entwickelt wie in Nr. 1).

Schwefelsäure- und Schwefelwasserstoffbildung konnten in den schwach entwickelten Pilzkulturen nicht festgestellt werden.

Aus den Versuchen Nr. 11 und Nr. 12 geht hervor, daß die Kohlenstoffquelle nur insofern einen Einfluß nimmt, als die Entwicklung der Pilze in Dextroselösungen viel rascher und kräftiger erfolgt.

13. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 4 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $FeCl_3$. Die Nährlösung war schwach sauer. Je zwei Kölbchen blieben als Kontrolle ungeimpft, zwei wurden mit Penicillium glaucum, zwei andere mit Aspergillus niger beimpft. Versuchstemperatur 15° C. Nach Verlauf von vier Tagen zeigte Penicillium glaucum eine ziemlich gute, Aspergillus niger eine recht schwache

Entwicklung. Die Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab folgenden Verbrauch an Jodlösung für je 10 ccm der Nährlösung:

Kontrolle: 19,8 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 1: 19,7 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 2: 19,3 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 16 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 17,9 ccm $\frac{n}{100}$ J.

In der schwach sauren Nährlösung von Penicillium glaucum Nr. 1 konnte deutliche Schwefelsäurebildung nachgewiesen werden. Schwefelwasserstoff wurde bei der direkten Prüfung in den Pilzkulturen nicht vorgefunden.

14. Versuch. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie im 13. Versuch, nur enthielt die Nährlösung noch 2 g KNO_2 und zeigte schwach alkalische Reaktion. Die Pilzentwicklung war besonders bei Aspergillus niger schwächer wie im 13. Versuch. Die Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab folgenden Verbrauch an Jodlösung für je 10 ccm der Nährlösung:

Kontrolle: 15,2 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 1: 14,9 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 2: 15 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 10,1 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 10 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Schwefelsäure konnte nicht nachgewiesen werden, ebenso war die Bildung von Schwefelwasserstoff nicht festzustellen. Bei dem sehr schwach entwickelten Aspergillus niger war ein besonderer Unterschied gegenüber dem 13. Versuch zwar nicht nachzuweisen, wohl aber bei Penicillium glaucum, dessen stärkerer Verbrauch an Natriumthiosulfat jedenfalls der Bildung von Polythionat (Tetrathionat) in der alkalischen Nährlösung zuzuschreiben ist (s. Versuch 4 und 5).

Zu bemerken wäre noch, daß zum Nachweis von Schwefelwasserstoff mit Hilfe von Bleipapierstreifen, die durch den Wattepfropfen in

dem Hals der Erlenmeyerkölbchen oberhalb der Nährlösung festgehalten werden, unbedingt sterilisierte Bleipapierstreifen zu verwenden sind. Um das Braunwerden der Bleipapierstreifen durch Sterilisation in der Hitze zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Bleipapierstreifen vor der Verwendung in heiße kochende Bleizuckerlösung einzubringen und in dieser Lösung einige Zeit zu belassen, wodurch sie steril erhalten werden.

Höhere Konzentrationen von Natriumthiosulfat, besonders saure Lösungen, erleiden auch in sterilem Zustande bei längerem Stehen (mehrere Wochen) eine merkliche Zersetzung unter Schwefelabscheidung, worauf bei längerer Versuchsdauer Rücksicht genommen werden muß, da sich selbstverständlich dadurch ganz andere Versuchsbedingungen und naturgemäß auch andere Versuchsresultate ergeben.

Die hier mitgeteilten mit Hefen und Schimmelpilzen ausgeführten Versuche haben ergeben:

1. Hefen assimilieren Thiosulfat unter Bildung von Schwefelwasserstoff.

2. Eine Reduktion von Sulfat durch Hefen unter Schwefelwasserstoffbildung findet nicht statt.

3. Botrytis Bassiana, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Isaria farinosa und Fusisporium können Thiosulfate direkt assimilieren. Es konnte bei diesen Pilzen unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen weder die Bildung von Schwefelwasserstoff, noch von Schwefelsäure, noch Schwefelablagerung nachgewiesen werden; eine merkliche Oxydation des Thiosulfats zu Polythionaten (Tetrathionat) war nicht erfolgt.

4. Mucor Boidin entwickelt, ebenso wie dies bei Hefen der Fall ist, in Thiosulfatlösungen Schwefelwasserstoff, dessen Bildung aber meist erst bei längerem Einhängen von Bleipapierstreifen in den Kulturkölbchen nachgewiesen werden kann.

5. Penicillium glaucum und Aspergillus niger bilden je nach den Versuchsbedingungen (Reaktion der Nährlösung) entweder Polythionat (Tetrathionat?) oder Schwefelsäure, wobei im letzteren Falle auch eine Schwefelabscheidung erfolgt.

6. Auch in Nährlösungen mit 40% Thiosulfat kommen einzelne Schimmelpilze zu einer guten Entwicklung und Fruktifikation.

7. Schwefeleinlagerungen in den Hyphen finden in den Nährlösungen mit niedrigen Thiosulfatkonzentrationen gewöhnlich nicht statt; man trifft sie auch bei höheren Konzentrationen nur gelegentlich bei einzelnen, nicht bei allen Pilzen an.

Über den kinetischen Verlauf der alkoholischen Gärung.

Von **A. v. Lebedew.**

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Nowotscherkassk.)

Im Jahre 1908 habe ich bei meinen kinetischen Studien über die Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung[1]) festgestellt, „daß das Verschwinden des Zuckers und die Gärung zwei nebeneinander verlaufende, unabhängige Prozesse (konsekutive Reaktionen) sind“[2]).

Im Jahre 1910 habe ich einen von den zahlreichen Versuchen, die ich mit Preßsaft aus der Hefe der Schultheiß-Brauerei, A.-G., in Berlin ohne Zusatz von Phosphat ausgeführt habe, ausführlicher beschrieben und das nachfolgende Diagramm mit den beiden Kurven AB und AC angegeben (Fig. 1).

Ich schrieb damals[3]):

„Die Menge des in der Lösung in bestimmten Zeitintervallen noch bleibenden Zuckers kann man nach zwei Methoden bestimmen, einmal indirekt, indem man den zersetzten Zucker nach der entwickelten Menge der Kohlensäure berechnet und von dem von Anfang an vorhanden gewesenen abzieht. Trägt man die so ermittelte Menge des Zuckers auf die Ordinate auf, die Zeit auf die Abszisse, so ergibt sich die Kurve AB (Fig. 1). Wenn man aber den vorhandenen Zucker in gärender Flüssigkeit bestimmt, so bekommt man die Kurve AC (Fig. 1). Die Differenz der beiden Kurven zeigt offenbar, daß in der Lösung ein Produkt vor-

---

1) A. Lebedew, Biochemische Zeitschrift Bd. 10, 1908, S. 456.

2) Wenn sich Milchsäure als Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung bildet, wie dies Buchner und Meisenheimer behaupteten, müßte die Differenz zwischen den beiden Kurven in der Mitte der Gärung besonders deutlich werden; diese Erwägung veranlaßte mich damals, diesbezügliche Versuche anzustellen. Die Kohlensäure habe ich mit Hilfe des Waltonschen Schüttelapparates, den Zucker nach der Bangschen Methode kinetisch gemessen. Die von mir vermutete Differenz wurde auch wirklich bei diesem Versuche festgestellt, doch war die Ursache derselben, wie es sich später herausstellte, eine ganz andere.

3) A. Lebedew, Bioch. Zeitschr. Bd. 28, S. 213.

handen ist, das nicht mehr ursprünglicher Zucker ist, aber auch noch in CO_2 und Alkohol zersetzt wird. Ist nun in der Lösung die Hälfte des Zuckers vergoren, so sind ca. 20 % der ursprünglichen Zuckermenge, scheinbar, nach dem Reduktionsvermögen berechnet, verschwunden, ohne die entsprechende Menge der CO_2 und des Alkohols zu liefern. Dieser Verlauf der Kurven ist charakteristisch für die konsekutiven Reaktionen mit der Bildung des Zwischenproduktes.“

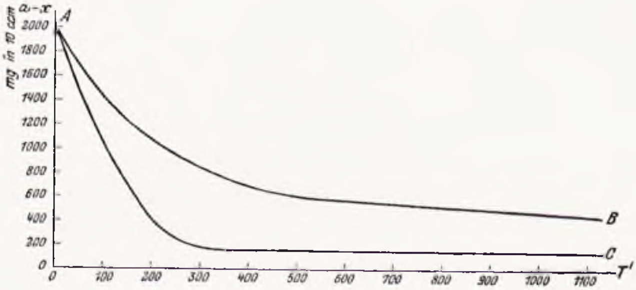


Fig. 1.

Harden und Young[1]) und später Buchner und Meisenheimer[2]), die die Arbeit der eben genannten Autoren wiederholt haben, zeigten, daß bei der Gärung ein Teil des Zuckers in ein sogenanntes Polysaccharid übergeht. Wenn nun die Ursache der Differenz der beiden Kurven in dem Entstehen des Polysaccharids gelegen wäre, so dürften die Kurven auf diese Weise verlaufen (Fig. 2, schematisch).

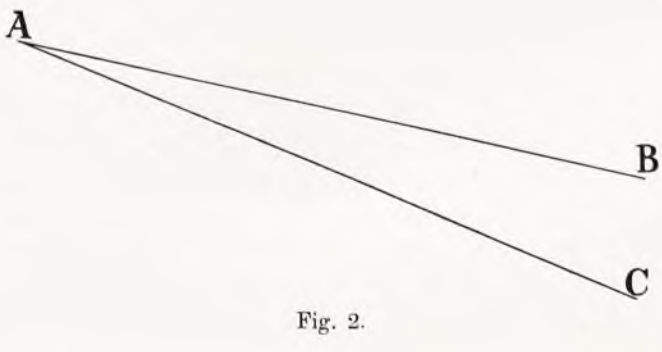


Fig. 2.

Das ist aber, nach dem in Fig. 1 angeführten Diagramm, nicht der Fall.

[1]) Harden und Young, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 37, 1904, S. 1052.

[2]) Buchner und Meisenheimer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 39, 1906, S. 3201.

Indessen mußte ich die kinetischen Studien, die mich zur Isolierung[1]) des Zuckeresters geführt haben, für einige Zeit unterbrechen, um alle meine Aufmerksamkeit auf die Aufklärung des Chemismus der Gärung zu lenken[2]).

Ähnliche Versuche, jedoch mit lebender Hefe statt mit dem Hefenpreßsaft, haben später auch Euler und Johansson[3]) ausgeführt und hierbei meine Angaben[4]) im wesentlichen bestätigt, doch blieb an dieser Stelle[5]) meine Beobachtung unerwähnt.

In dieser Zeitschrift sprechen Euler und Berggren auch über den „Hefeextrakt“[6]). Ich möchte nun darauf hinweisen, daß der sogenannte „Hefeextrakt“ nichts weiter ist, als der nach meiner, von den Autoren etwas abgeänderten Methode, dargestellte Hefemazerationssaft[7]). Sie verwenden ihn in abgekochtem Zustande, es handelt sich also um Kochsaft, der, nach Harden und Young[8]) ein Koenzym enthält. Die außerordentlich günstige Wirkung des Kochsaftes auf die Preßsaftgärung wurde von Buchner und Klatte[9]) ausführlich studiert. Später habe ich gezeigt, daß der nach meiner Methode dargestellte Hefemazerationssaft besonders reich an Koenzym ist[10]). Es kann also nicht wundernehmen, daß auch die Gärung der lebenden Hefe durch Zusatz des Kochsaftes sehr begünstigt wird, wie dies auch Euler und Berggren[11]) in ihrer Areit gefunden haben.

---

[1]) A. Lebedew, a. a. O. und Biochem. Zeitschrift Bd. 20, 1909, S. 124.

[2]) A. Lebedew, Compt. rend. de l'acad. Bd. 153, 1911, S. 136; Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 44, 1911, S. 2932.

[3]) Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 76, 1912, S. 347.

[4]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 73, S. 314; A. Lebedew, Ibid. Bd. 75, S. 499.

[5]) Euler und Johansson, a. a. O.; s. a. Euler und Berggren, a. a. O.

[6]) Euler und Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphys. Bd. 1, 1912, S. 205.

[7]) A. Lebedew, Compt. rend. de l'acad. Bd. 152, 1911, S. 49; Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 73, 1911, S. 447. Statt nach meiner Vorschrift bei 35° durch 2 Stunden, mazerieren die Autoren 3 Stunden bei 30°.

[8]) Harden und Young, Journ. Physiol. Bd. 32, 1904; Proc. Ch. Soc. Bd. 21, 1905; Proc. Roy. Soc. Bd. 77 u. 78, 1906.

[9]) Buchner und Klatte, Biochem. Zeitschr. Bd. 15, 1909, S. 311.

[10]) A. Lebedew, Ann. de l'Inst. Pasteur Bd. 25, 1911, S. 682; Bull. de la Soc. chem. de France, 4e, t. 9, 1911, S. 672.

[11]) Euler und Berggren, a. a. O.

Über den unvergärbaren Zucker (Pentose) und die Furfurolbildung im Wein.

Von Dr. **R. Haid.**

(Vorläufige Mitteilung aus dem Chemischen Versuchs- und Hefereinzuchtlaboratorium der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg.)

Die Resultate meiner bisherigen Untersuchungen über diesen Gegenstand sind bereits in dem Jahresberichte der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau 1910/11, welcher im August 1911 erschien, auf Seite 105—106 niedergelegt. Zur Veröffentlichung meiner diesbezüglichen Versuche in einer Fachzeitschrift drängt mich das Referat über die Arbeit von V. Pasquero und A. Cappa[1]) in Bd. 24, Heft 5, S. 355 der Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Aus diesem Referate[2]) geht hervor, daß Pasquero und Cavagnari bereits 1909 (Atti della Soc. Lig. di Science Naturali 20) gezeigt haben, daß man bei der Destillation von Wein kein Furfurol erhält, wenn der Wein vorher neutralisiert war.

Unabhängig von diesen Verfassern gelangte ich zu demselben Resultate und stellte außerdem fest, daß das bei der Destillation von Wein sich bildende Furfurol nicht aus der l-Arabinose stammen kann, wie aus den folgenden Mitteilungen entnommen werden möge.

Die unternommenen Versuche bezweckten, die in der Literatur mehrfach[3]) enthaltene Angabe, daß der in jedem Wein in einer Menge von ca. 0,1 % nach der normalen Gärung zurückbleibende, also unvergärbare, die Fehlingsche Lösung jedoch reduzierende Zucker, die

---

[1]) V. Pasquero und A. Cappa, Die Gegenwart von Furfurol als ein Zeichen einer Fälschung bei einigen alkoholischen Getränken. Gaz. chim. ital. 1911, 41, Bd. 2, S. 349—358.

[2]) Siehe auch Chem. Centralbl. Bd. 1, 1912, S. 857.

[3]) J. Weiwers, Über den unvergärbaren Zucker im Wein. Referat in Chem.-Ztg. 1906 (Chem. Repert. S. 292).

l-Arabinose sei, näher zu prüfen. Diese nirgends bewiesene Annahme kann nach den bisherigen Versuchen nicht mehr aufrecht erhalten werden.

Bekanntlich liefern die Pentosen bei der Destillation mit Salz- oder Schwefelsäure Furfurol gemäß der Gleichung:

$$C_5H_{10}O_5 = C_5H_4O_2 + 3H_2O.$$

Diese katalytische Wirkung der Wasserstoffionen wird umso schwächer werden müssen, je geringer deren Konzentration ist. Die Säuren des Weines, Weinsäure und Äpfelsäure, sind in wässeriger oder wässerig-alkoholischer Lösung viel weniger in ihre Ionen gespalten als die starken Mineralsäuren. Für die Entscheidung der Frage, ob Furfurol im Wein aus Arabinose entstehen kann, war es daher vor allem notwendig, die Wirkung der Säuren des Weines, jede für sich, auf Arabinose zu untersuchen und dabei die Mengenverhältnisse wie im Wein möglichst einzuhalten.

Zu dem Zwecke wurden 0,2 g „kristallisierte Arabinose" (frisch von Merck bezogen)[1]) und 1 g reinste Äpfel- bezw. Weinsäure in je 100 ccm 10prozentigen Alkohols gelöst und darauf etwa zwei Drittel abdestilliert. Bei neun derartigen Versuchen wurde in keinem Falle im Destillat Furfurol nachgewiesen. Als Reagens diente eine nur schwach gefärbte Mischung von gleichen Teilen Anilin und Eisessig in Alkohol, welche noch 0,001 % Furfurol durch Rosafärbung anzeigte.

In einigen Fällen wurden drei Fraktionen des Destillates getrennt untersucht, in der Annahme, daß erst mit zunehmender Konzentrierung der Säure die Furfurolbildung nachweisbar wird, jedoch mit negativem Erfolg. Der Destillationsrückstand (ca. 30 ccm) gab dagegen nach Zusatz von 10 ccm H_2SO_4 (1 : 4) und 60 ccm Wasser beim Destillieren die Furfurolreaktion, welche von der ersten bis zur dritten Fraktion deutlich an Intensität zunahm. Zur vergleichenden Prüfung der Farbenreaktion wurden je 5 ccm der Fraktion mit je 1 ccm Reagens vermischt.

Um den angewendeten Destillierapparat (langer Kugelkühler) daraufhin zu prüfen, ob nicht etwa infolge der großen Flüchtigkeit des Furfurols Spuren davon entweichen können, wurde eine sehr stark verdünnte Lösung des Aldehydes hergestellt, welche höchstens 1 mg in 100 ccm enthielt, und destilliert. Das Destillat (ca. 70 ccm) zeigte eine deutliche Rosafärbung, welche sogar noch etwas intensiver war als vor der Destillation. Ein Verlust von gebildetem Furfurol, welches etwa bei den Versuchen mit Arabinose dem Nachweise entgangen wäre, war also ausgeschlossen.

---

[1]) Es kann sich bei diesem Präparat ausschließlich nur um l-Arabinose handeln.

Somit ist der Schluß berechtigt, daß die Bildung von Furfurol beim gewöhnlichen Destillieren von vollständig vergorenem Wein nicht auf das Vorhandensein von l-Arabinose zurückgeführt werden kann, sondern daß im Wein eine andere Pentose enthalten ist, welche schon durch die Einwirkung der schwachen Säuren des Weines Furfurol abspaltet. In dieser Richtung sollen die Untersuchungen fortgesetzt werden.

Zur Prüfung der Entstehungsweise von Furfurol im Wein wurden zwei Weißweine und zwei Rotweine aus dem Versuchskeller der Lehranstalt, Original-Klosterneuburger Weine, verwendet, welche sämtlich vollständig vergoren, also praktisch frei von Hexosen waren. Diese wurden sowohl direkt, als auch nach dem Neutralisieren mit Natron- bezw. Kalilauge destilliert.

Beim direkten Destillieren konnte in allen Fällen im Destillate Furfurol nachgewiesen werden. Teils wurden 100 ccm Wein bis auf ca. 15 ccm abdestilliert und drei Fraktionen des Destillates getrennt mit Anilin-Eisessig geprüft, teils 300 ccm Wein bis auf 20 ccm abdestilliert und fünf Fraktionen auf Intensität der Rotfärbung vergleichend untersucht.

Hierbei konnte in allen vier Weinen eine regelmäßige Steigerung der Furfurolbildung beobachtet werden, welche offenbar der Zunahme der Säurekonzentration proportional war.

Wurden dagegen diese Weine vor dem Destillieren neutralisiert oder auch mit überschüssigem Alkali versetzt, so konnte selbst bei getrennter Prüfung der Fraktionen keine Spur einer Furfurolreaktion, auch nicht nach mehreren Minuten, konstatiert werden.

In einem besonderen Versuche wurden 100 ccm einer Furfurollösung, welche höchstens 1 mg Substanz enthielt, mit überschüssiger Kalilauge (ca. 75 mg KOH) destilliert und dieselbe Intensität der Rotfärbung im Destillate erhalten, wie mit der Furfurollösung selbst. Also kann beim Destillieren von alkalisch gemachtem Wein kein Furfurol dem Nachweise entgehen, welches schon von Natur darin enthalten wäre.

Aus den gesamten Versuchsergebnissen kann somit der vorläufige Schluß gezogen werden, daß Naturweine ursprünglich kein Furfurol enthalten, sondern daß dieses erst aus einer im Wein noch nicht nachgewiesenen Pentose, welche aber nicht l-Arabinose sein kann, mit zunehmender Konzentrierung des Weines nach und nach gebildet wird.

Referate.

Slator, A. Über Dioxyazeton als Zwischenstufe der alkoholischen Gärung. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 45, 1912, 43.

Verf. hatte in den Jahren 1906 und 1907 sich mit Messungen über die Geschwindigkeit der alkoholischen Gärung beschäftigt und damals aus seinen Versuchen geschlossen, daß Milchsäure als Zwischenprodukt nicht entstehen könne. Die gleichen Untersuchungsmethoden hat er auch jetzt verwendet, um zu prüfen, ob Dioxyazeton als intermediäres Produkt entsteht. Verf. konnte zeigen, daß Dioxyazeton durch Hefe nicht direkt vergoren wird, demnach auch nicht als Zwischenprodukt anzusehen sei. Zikes.

Euler, H. und Funke, Y. Über die Spaltung des Kohlenhydratphosphorsäureesters. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 77, 1912, S. 488.

Kohlenhydratphosphorsäureester bezw. dessen lösliche Salze werden durch ein im Hefepreßsaft vorkommendes Enzym, welches von den Entdeckern Harden und Young Hexosephosphatase genannt wurde, hydrolysiert. Da das Enzym und seine Beziehung zum synthetisierenden Agens, der Phosphatase, ein besonderes Interesse beansprucht, so wurde in vorliegender Arbeit der Versuch gemacht, dieses Enzym auch im Tierkörper nachzuweisen.

Verf. kamen zu dem Schluß, daß auch im Tierkörper der Zuckerzerfall in mehreren Phasen verlaufen wird, an welchen verschiedene Enzyme beteiligt sind. Diese dürften räumlich getrennt voneinander zur Wirkung kommen, so daß die primäre Umwandlung des Zuckers in einem Organ A, die eventuell intermediäre Bildung eines Phosphorsäureesters in einem anderen Organ B und die schließliche Bildung von Alkohol und CO_2 in einem weiteren Organ C erfolgt. Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Über zuckerfreie Hefegärungen. III. Bioch. Zeitschr., Bd. 36, Heft 1, 1911, S. 60.

Neuberg hatte bei seinen früheren Untersuchungen über zuckerfreie Gärungen die Menge der entwickelten Kohlensäure als Maß für die Gärtätigkeit der Hefe festzustellen versucht. In vorliegender Arbeit hat Neuberg mit seinem Mitarbeiter die Abnahme der Substanzen selbst, welche der Vergärung unterliegen und zur CO_2-Produktion Veranlassung geben, ins Auge gefaßt und dieselbe bestimmt. Sie beschäftigten sich in dieser Richtung mit Brenztraubensäure, d-Weinsäure und Glyzerinphosphorsäure. Bei allen drei Verbindungen konnte ein der CO_2-Bildung entsprechender Verbrauch dieser

Substanzen konstatiert werden. Ferner wurde festgestellt, daß sowohl durch anorganische (NaCl, $(NH_4)_2SO_4$) wie organische Zusätze (Brenztraubensäure, Oxalessigsäure) die Selbstgärung der Hefe herabgedrückt werden kann.

Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Über zuckerfreie Hefegärungen. VI. Bioch. Zeitschr., Bd. 37, Heft 1 und 2, 1911, S. 170.

Verf. haben eine Reihe von Ketonsäuren auf ihre Angreifbarkeit durch Hefen überprüft, wie Azetondikarbonsäure, Chelidonsäure, Dioxyweinsäure, Benzoylessigsäure, Phenylbrenztraubensäure, p-Oxyphenylbrenztraubensäure, Phenylglyoxalsäure, Azetylendikarbonsäure. Sie erhielten ein völlig negatives Resultat bei Benzoylessigsäure, ein zweifelhaftes bei Azetylendikarbonsäure, während alle übrigen Säuren oder deren Kaliumsalze ein positives Resultat ergaben. Auf einen wichtigen Punkt lenken schon jetzt die Verf. die Aufmerksamkeit, nämlich auf die Tatsache, daß gerade die α-Ketonsäuren ganz besonders leicht der zuckerfreien Gärung unterliegen. Zikes.

Schönfeld, F. und Krampf, H. Die Heranzüchtung der Reinhefe und die Bedeutung des Züchtungsverfahrens für die chemische und physiologische Beschaffenheit der Hefe. Wochenschr. f. Brauerei, XXVIII, 1911, S. 157.

Die Verf. erhielten bei zwei untersuchten Hefen, von welchen die eine in der üblichen Weise in offenen Gefäßen hergeführt wurde und die zweite nach dem Lüftungsverfahren bei warmer Temperatur gezüchtet wurde, folgende Untersuchungsergebnisse:

Eine nach dem Herführungsverfahren gezüchtete Hefe ist durch einen höheren Eiweißgehalt und Aschegehalt, aber durch einen niederen Glykogengehalt ausgezeichnet. Sie ist weiter charakterisiert durch einen höheren Gehalt an löslicher und löslich organischer Phosphorsäure, durch einen niedrigeren Gehalt an löslicher anorganisch gebundener Phosphorsäure. Ihr spezifisches Gewicht ist niedriger, ihre Flockenbildung besser, ihre Triebkraft höher, aber ihre Vergärung niedriger als bei einer nach dem Lüftungsverfahren und bei warmer Temperatur gezüchteten Hefe. Verf. kamen zu dem Schlusse, daß der Art der Züchtung bei Hefen ein entscheidender Einfluß auf ihre chemische Zusammensetzung zuzusprechen ist. Zikes.

Lipman, C. B. Bindung des elementaren Stickstoffs durch Hefen und andere Pilze. Journ. of biolog. chem., Bd. 10, 1911, S. 169[1]).

Nach Versuchen des Verf. sind gewisse Hefen wie S. cerevisiae, Hans. apiculata, gewisse Torula- und Mycoderma-Arten, ferner Penic. glaucum und

[1]) Anm. d. Red. Die Abhandlung von Lipman ist im Spätherbst 1911 (Baltimore) erschienen. Vergl. a. Al. Kossowicz, Einführung in die Mykologie der Genußmittel, 1911, S. 13 und diese Zeitschrift, Bd. I, 1912, S. 253.

Asperg. niger oligonitrophil und vermögen den Stickstoff der Luft zu assimilieren. Am meisten stickstoffbindend wurde eine Torula erkannt, welche in Mannitlösung pro 1 g verbrauchten Mannits 2,94 mg Stickstoff bindet.

Zikes.

Euler, H. und Bäckström, H. Zur Kenntnis der Hefegärung. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 77, 1912, S. 294.

Durch Trockenhefe oder Hefepreßsaft wird Phosphorsäure an einen Kohlehydratrest organisch gebunden; Iwanoff sah diesen Ester als Triosephosphorsäure, Harden und Young als Hexosediphosphorsäure an; Euler und Fodor wiesen andererseits darauf hin, daß sowohl eine Triosephosphorsäure wie auch eine Hexosephosphorsäure entstehen. Der von Iwanoff studierte Phosphorsäureester wird, wie dieser Forscher exakt nachgewiesen hat, durch Zymin und Hefanol vergoren. Lebende Hefe ist dagegen nach Iwanoff nicht imstande, den Phosphorsäureester zu vergären. Verf. suchten diese Frage gleichfalls zu lösen nnd kommen zu dem Schlusse, daß gut ausgewaschene Trockenhefe nicht imstande ist, mit reinem Kohlenhydratphosphorsäuresalz in Glukoselösung Gärung hervorzurufen, während auf Zusatz von Waschflüssigkeit lebhafte Gärung eintritt. Andererseits steht aber fest, daß das Estersalz, welches allein zu ausgewaschener Trockenhefe zugesetzt, keine Glukosegärung veranlaßt und somit kein Koenzym im Sinne Hardens und Youngs enthält, die Gärung durch lebende Hefe beschleunigt und dabei selbst nicht (oder höchstens in minimaler Menge) gespalten wird.

Zikes.

Gorini, C. Die frischen, gelagerten und getrockneten Rübenschnitzel in Beziehung zur Mikroflora und gesundheitlichen Beschaffenheit der Milch. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 35—40 und Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 241—245.

Sowohl die frischen, wie die ensilierten und die getrockneten Diffusionsrückstände wurden relativ reich an Buttersäure- und Fäulnisbakterien gefunden, am meisten die ensilierten. Sowohl auf direktem Wege wie nach Passage des Tierkörpers (in Fäkalpartikeln) können diese Keime in die Milch gelangen und deren Qualität sowohl in hygienischer Hinsicht wie in einer für Käsereizwecke nachteiligen Weise beeinflussen. Nach Verf.s Ansicht wären sie nur bei aseptischem Melken und „einem amikroben Filtrieren“ (?) auszuschließen; da dies im allgemeinen nicht gewährleistet ist, sei die Schnitzelfütterung bei Milchkühen am besten ganz zu unterlassen. — Der Herausgeber des „Milchwirtschaftlichen Zentralblatts“ bemerkt mit Recht hierzu, daß es schon bei Anwendung verhältnismäßig einfacher Vorsichtsmaßregeln recht wohl möglich ist, auch bei (natürlich nicht übertriebener) Schnitzelfütterung einwandfreie Milch zu gewinnen. Löhnis.

Burri, R. und Kürsteiner, J. Zur Klärung der Anschauungen über die reduzierenden Eigenschaften der Kuhmilch. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 41—44, 68—74, 101—105, 134—140, 168—172.

Als Ursache der Reduktion des Methylenblaues in der bei Temperaturen unterhalb 50° C aufbewahrten Milch kommt fast allein die Bakterien-Tätigkeit in Frage, und zwar handelt es sich allem Anscheine nach um eine direkte Wirkung des Zellplasmas oder von Plasmabestandteilen, nicht von Enzymen. Die anderen Zellbestandteile (Leukozyten usw.) mögen in Mastitis- und Colostrummilch von einiger Bedeutung sein. Antiseptisch wirkende Substanzen hemmen beide Arten von Reduktionserscheinungen. Der Einfluß der Milchzellen bleibt noch (an steril gewonnener, anaerob aufbewahrter Milch) näher zu prüfen. Erhitzte Milch wirkt reduzierend, weil in ihr Schwefelwasserstoff, Ameisensäure und andere reduzierende Substanzen vorhanden sind. Diese Reduktionserscheinung tritt am deutlichsten hervor, wenn die Proben unter Pyrogallol-Verschluß bei 70—90° C aufbewahrt werden. Bei 38° C kommt sie nur in stark erhitzter Milch zur Geltung. Längere Zeit an der Luft aufbewahrte Proben reduzieren (wegen inzwischen eingetretener Sauerstoff-Absorption) nicht mehr. Mit Rücksicht auf die geringe Haltbarkeit der Methylenblau-Lösungen ist für exakte Versuche Innehaltung einer bestimmten Konzentration resp. deren Kontrolle unentbehrlich.

Die Formalin-Methylenblau-Reduktionsprobe muß bei 70° C angestellt werden. Nur in diesem Falle tritt das die reduzierende Wirkung des Formaldehyds beschleunigende und deshalb am besten als „Formaldehydase" zu bezeichnende Enzym allein in Tätigkeit. Bei niedrigeren Temperaturen (45° C) kommt es infolge Mitwirkung der Bakterien-Reduktion zu Mischreaktionen.

Löhnis.

Weigmann und Wolff, A. Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 2—6, 65—68, 97—100, 129—134.

Langsam säuernde, fehlerhafte (bittere, ranzige oder schwer zu verbutternde) Milchproben erwiesen sich abnorm arm an Milchsäurestreptokokken, dagegen relativ reich an Varietäten des B. lactis innocuus Wilde, Fluorescenten, gelben und weißen Kokken. In vorzeitig gerinnender Milch traten verschiedene labproduzierende Organismen (Sporenbildner, Fluorescenten u. a.) allein oder neben Milchsäurebakterien in Tätigkeit. Die Kombination mit Coli-Aerogenes-Varietäten führte zur ausgesprochen „käsigen" Gerinnung. Naturgemäß wurden auch Geschmack und Geruch der Milch je nach Art und Mischung der anwesenden Keime abweichend beeinflußt.

Export-Dosen-Milch war oft infolge nachträglicher Infektion undichter Büchsen verdorben. Für eine andere fehlerhafte Änderung von Farbe und Konsistenz mußte das angewandte Lötmittel verantwortlich gemacht werden.

In öligen und anderen schlecht schmeckenden Butterproben traten Milchzucker vergärende Hefen stark in den Vordergrund. Schimmelpilze gaben Anlaß zum Auftreten roter und grüner Flecke.

Von den Beobachtungen über Käsefehler ist ein in einer Quargkäserei konstatierter Fall bemerkenswert, in dem die Käschen sich mit einer runzligen, mehlig bestäubten, leicht ablösbaren Oidium-Haut überzogen, unter der starke Erweichung des Käseteiges Platz griff. Impfung mit Mycoderma casei half in Verbindung mit kühler Lagerung der Käse dem Übelstande ab.

Löhnis.

Wehmer, C. Die Natur der lichtbrechenden Tröpfchen in den Sporen des Hausschwamms (Merulius lacrymans). Ber. Deutsch. Botan. Gesellsch., Bd. 29, 1911, S. 483—487.

Über die chemische Natur der in den Hausschwammsporen auftretenden, stark lichtbrechenden Inhaltströpfchen sind schon die verschiedenartigsten Ansichten ausgesprochen worden. Nach den Untersuchungen des Verf. ist es wahrscheinlich, daß diese Inhaltskörper aus einem ätherischen Öl bestehen, das vielleicht die Ursache des championartigen Geruches der trockenen Hausschwamm-Fruchtkörper darstellt. Über die Morphologie der Sporen verschiedener Merulius-Arten macht Verf. im Anschluß daran einige Mitteilungen.

J. Weese, Wien.

Brick, N. Zythia resinae (Fr.) Karst. als unangenehmer Bauholzpilz. Jahresber. Vereinig. f. angew. Botanik, Bd. 8, 1911, S. 164—170.

Auf Kiefernholz, das zu Fensterrahmen und Türen verwendet und mit einem weißen Ölfarbenanstrich versehen war, zeigten sich auf der weißen Farbe violette bis schmutzigrote Flecken. Manche Stellen waren direkt von rauchgrauer bis dunkelgraubrauner Farbe. Verf. fand an den verfärbten Stellen in großer Menge Pyknidengruppen von Zythia resinae (Fr.) Karst., welcher Pilz bisher nur auf frischem Kiefernharze gefunden wurde und zu den Nectrioidaceae-Zythieae gehört.

Das braune Myzel des Pilzes wächst in den Harzkanälen des Holzes und in den diese begleitenden Holzparenchymzellen, dringt jedoch auch in die mittlere Markstrahlenschicht ein.

Die Farbe der Pykniden schwankt, ebenso die Sporengröße.

J. Weese, Wien.

Bittmann, Otto. Schwarzwerden von Zelluloseholz. Österr. Forst- und Jagdzeitung, Jahrg. 29, 1911, S. 40.

Verf. berichtet über die stellenweise Schwarzfärbung der Schnittflächen der längere Zeit auf Holzlagerplätzen aufgestapelten Nutz- und Brennhölzer, hauptsächlich Rot- und Weißbuche, Ruster, Ahorn- und Eichenarten, in geringerem Maße Linde, Pappel- und Nadelholzarten, die durch Bispora monilioides Corda (Dematiaceae) verursacht wird.

Als Vorbeugungsmittel gegen das Auftreten dieses Saprophyten empfiehlt der Verf. rascheste Abfuhr des Holzes aus dem Walde und wenn dies nicht möglich ist. Aufstapelung der Vorräte an trockenen, luftigen Orten.

J. Weese, Wien.

Schorstein, Josef. Pilze an Kieferschwellen. Österr. Forst- und Jagdzeitung, Jahrg. 29, 1911, S. 111.

Die zu Eisenbahnschwellen verwendeten Holzstücke dürfen laut Vorschrift nicht „schwammig" sein. Verf. weist darauf hin, daß diese Forderung verschieden aufgefaßt werden kann und daß, da es absolut pilzfreie Schwellen nicht gibt, eine richtige Beurteilung der allenfalls auffallend verpilzten Schwellen nur nach richtiger Unterscheidung der Pilzarten möglich ist, weil nicht alle Pilzbildungen, wenn sie auch reichlich auftreten, den Wert bedeutend verringern.

So schädigt Peniophora gigantea (Fr.) Cooke (= Kneiffia gigantea (Fr.) Bres.) nur die oberste Schichte, die für die Verwendung von keiner Bedeutung ist. Ein Laie würde den Pilz für einen argen Schädling halten. Etwas tiefer dringt Corticium sanguinolentum (Alb. et Schw.) Fr. in das Splintholz ein, während Polyporus amorphus und Lenzites saepiaria Fr. die Föhrenschwellen ernstlich entwerten können. J. Weese, Wien.

Lindner, P. z. T. in Gemeinschaft mit dem Dipl.-Brauereiingenieur Stefan Cziser. Der Alkohol, ein mehr oder weniger ausgezeichneter Nährstoff für verschiedene Pilze. Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 1, S. 1.

Nachdem außer von Schulz in der Zeitschrift „Weinbau" 1903, S. 91 keine Angaben über das Verhalten der Hefen gegen Alkohol vorliegen, wurde Stefan Cziser von Lindner beauftragt, eine orientierende Versuchsreihe mit verschiedenen Kulturen auszuführen. Es wurden verwandt S. thermantitonum, S. Pastorianus I und III, S. ellipsoideus, Fruchtätherhefe, S. hyalosporus, S. farinosus, S. Ludwigii, Schizos. Pombe und Endomyces Magnusii, welche in eine Nährlösung eingeimpft wurden, die in Leitungswasser 0,025 % $MgSO_4$, 0,5 % KH_2PO_4 und 0,5 % $(NH_4)_2SO_4$ aufgelöst enthielt. Zu je 5 ccm in Vierkantfläschchen mit Wattepfropf gebrachter steriler Nährlösung wurden 0,08 ccm abs. Alkohol (= 1,6 %) als Kohlenstoffquelle zugefügt und die geimpften Fläschchen bei 23—26° C stehen gelassen. Innerhalb 7 Tagen zeigten deutliches Wachstum S. thermantitonum, Endomyces Magnusii, Fruchtätherhefe und S. farinosus, letztere Hefe das üppigste. Nach Vermehrung des Alkoholgehalts bis 4 % zeigte sich bald verstärktes Wachstum der letzten drei Organismen. Dann wurden je 25 ccm der Nährsalzlösung in 100 ccm-Flaschen verwendet und geimpft, mit und ohne Alkoholzusatz und die Kultur teils bei 23—26° C, teils bei 6—8° C bei täglich einmaligem leichten Umschütteln durchgeführt, wobei sich nach 7tägiger Beobachtung ergab, daß selbst in den Flaschen mit rein mineralischer Ernährung bei 23—26° C eine ganz schwache Vermehrung beobachtet wurde, daß aber das Wachstum in den mit

Alkoholzusatz versehenen Kulturen auffallend kräftiger, namentlich bei den letztgenannten vier Arten war.

Fast keine Vermehrung trat bei S. thermantitonum, Fruchtätherhefe und Endomyces Magnusii bei 6—8° C ein. Durch eine Erhöhung des Alkoholgehaltes auf 4% wurden die Unterschiede zwischen den Kulturen ohne und mit Alkoholzusatz immer deutlicher.

Weitere bei 36—42° C beobachtete Kulturen der Fruchtätherhefe, von S. farinosus und Endomyces Magnusii in Nährlösung mit 2% Alkohol lieferten ein negatives Resultat; ebenso war die Vermehrung dieser Organismen bei 23—26° C in mit Korkstopfen verschlossenen Flaschen geringer als in jenen mit Watteverschluß, wurde aber wieder kräftiger, nachdem der Korkverschluß mit einem solchen von Watte vertauscht worden war. Die ausgeführten Alkoholbestimmungen ergaben, daß S. farinosus 0,24, die Fruchtätherhefe 0,22 und Endomyces Magnusii 0,21% Alkohol verbraucht haben. Lindner bezeichnet mit Recht die im Filtrat direkt ohne vorhergegangene Destillation ausgeführten Alkoholbestimmungen als nicht einwandfrei und meint, daß die Versuche unter Berücksichtigung dieses Umstandes wiederholt werden müssen.

Über Anregung von Lindner wurde von Cziser auch ein Versuch mit dampfförmigem Alkohol gemacht und konstatiert, daß sich auch hierdurch die drei letztgenannten Organismen erheblich vermehrten.

Die negativen Befunde, welche sich in der mitgeteilten Versuchsreihe vorfinden, führt Lindner auf die bekannte Tatsache zurück, daß viele Hefen und Pilze in Ammonsalzen als Stickstoffquelle nicht wachsen.

Dem Einwand, daß die Kohlenstoffernährung in den mit Watteverschluß ausgeführten Kulturen möglicherweise auf Kosten des Kohlensäuregehaltes der Laboratoriumsluft stattgefunden habe, begegnet Lindner, indem er bemerkt, daß dem die Ergebnisse der Versuche, bei welchen dampfförmiger Alkohol zugeführt wurde, entgegenstehen.

Die in der Tabelle niedergelegten Resultate orientieren, wie von Frl. Toni Unger ausgeführte Versuche lehren, daß nicht nur Kahmhefen, sondern auch andere Mikroben, namentlich Schimmelpilze Alkoholfresser sind, während die Hefen der Brauereien, Brennereien und Preßhefefabriken unter den angewandten Bedingungen, von Ausnahmen abgesehen, nur wenig Alkohol assimilieren, jedoch ist das Verhalten dieser Organismen gegenüber Alkohol bei einer Stickstoffernährung noch aufzuklären. Lindner ist der Meinung, daß der Alkohol unter allen Umständen auch Nährstoff ist und daß er insbesondere in 4%iger alkoholischer Lösung als mehr oder weniger ausgezeichnetes Nährmittel und nicht als Plasmagift wirkt.

Die bisherige Auffassung, daß der Alkohol von den ihn assimilierenden Organismen verbrannt bezw. veratmet würde, ist nicht mehr aufrecht zu erhalten, da er Vermehrung, also Umbildung der Körpersubstanz bewirkt.

Die in der Versuchsreihe ebenfalls angeführten Resultate, bei welchen Dextrose als Kohlenstoffquelle benutzt worden war und negative Ergebnisse

gegenüber der Alkoholernährung ergeben hatten, glaubt Lindner damit erklären zu können, daß diese Organismen Dextrose nicht assimilieren und demgemäß hier ein Beispiel vorliege für die gelegentliche Überlegenheit des Alkohols gegenüber Traubenzucker.

Bei der Alkoholassimilation haben die am kräftigsten wachsenden Organismen am meisten Säure gebildet, welche nach Lindner freie Schwefelsäure, aus dem zugefügten Ammoniumsulfat gebildet. möglicherweise aber auch organischer Natur, durch Oxydation des Alkohols entstanden, sein kann.

Nach Ansicht des Referenten ist es für die Frage der Alkoholassimilation und des Chemismus derselben von hoher Bedeutung, die Natur und Menge der gebildeten Säuren und ihren Ursprung einwandfrei zu bestimmen.

In einer Nachschrift macht Lindner darauf aufmerksam, daß Heinrich Hesselbring in The Botanical Laboratory 1908 und in The Botanical Gazette 45, 176—193, März 1908, das Wachstum von Penicillium bei Alkoholzusatz und F. Ehrlich die Assimilierbarkeit des Alkohols durch Hefen (Willia anomala) und Schimmelpilze (Oidium lactis, Rhizopus nigricans) in der Biochemischen Zeitschrift 1911, Bd. 36, Heft 5 und 6 nachgewiesen haben.

Prior.

Herter, W. Die Sexualität der Pilze. Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 2 u. 3.

Verfasser bespricht ausführlich die Sexualvorgänge in dem Reiche der Pilze und gibt eine ausführliche Zusammenstellung des heutigen Standes unserer Kenntnisse hierüber. Da eine Wiedergabe des Inhaltes ohne die im Original enthaltenen Abbildungen nicht gut möglich ist, muß auf das Original verwiesen werden. Prior.

Will, H. und Heuß, R. Essigsäuremethylester als Kohlenstoffquelle für Hefe und andere Sproßpilze. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen, 35, 1912, Nr. 11, Seite 128.

Schon seit längerer Zeit mit Untersuchungen über das Verhalten von Estern gegen Hefen und andere Sproßpilze beschäftigt, haben die Verfasser Beobachtungen gemacht, die sie im Hinblick auf Veröffentlichungen von F. Ehrlich[1]) und P. Lindner[2]) zur Bemerkung veranlaßten, daß eine Reihe gleichartiger und ähnlicher Versuche auf jenem Gebiet teils schon gemacht, teils geplant ist, deren Ergebnisse zur gegebenen Zeit ausführlich mitgeteilt werden.

Bei einem Versuch mit gehopfter Bierwürze, die einen Zusatz von Essigester in bestimmten Abstufungen erhalten hatte, ergab sich bei einem für die verschiedenen Hefen wenn auch nur wenig verschiedenen Prozentgehalt von Essigester zuerst eine deutliche Hemmung gegenüber dem Kontrollversuche,

---

[1]) Biochemische Zeitschrift 1911, 36, S. 477.

[2]) Wochenschrift für Brauerei 1912, 29, S. 1.

dann aber normales Wachstum und teilweise sogar eine starke Förderung der Vermehrung, woraus Verfasser vermuten, daß die betreffenden Sproßpilzarten den Essigester assimilieren, also zum Aufbau ihrer Körpersubstanz verwerten.

Es wurden nun Versuche zunächst mit einer Reihe von hautbildenden Sproßpilzarten, die sich hauptsächlich durch Oberflächenwachstum vermehren, in einer Nährlösung, welche 1% $(NH_4)_2$ SO_4, 0,8% K_2HPO_4, 0,3% $MgSO_4$, 0,05% KCl und als einzige Kohlenstoffquelle Zusätze von Essigester in verschiedenen Mengen enthielt, durchgeführt, wobei als Vergleich einerseits dieselbe Nährlösung mit 10% Dextrose als Kohlenstoffquelle, andrerseits die rein mineralische Lösung ohne Ester- und Dextrosezusatz diente.

Verwendet wurden Mycoderma vilida Leberle, Mycoderma decolorans Will, Torula Nr. 12 Will, Torula Nr. 15 Will, Willia anomala var. II Steuber, Willia anomala Hansen und Pichia membranaefaciens Hansen mit Zusätzen von 0,5, 1, 3 und 5% des Esters zur Nährlösung.

Die erhaltenen Ergebnisse sind folgende:

Die Vermehrung der Organismen bei Esterzusatz bleibt im Anfang bei Laboratoriumtemperatur gegenüber den Kulturen mit Dextrosezusatz zurück, jedoch war in allen Fällen auch hier schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit, teilweise sogar in den Kulturen mit dem relativ großen Zusatz von 5% Ester eine Vermehrung erkennbar, wobei Umfang und Stärke der auf der Oberfläche der Flüssigkeit gebildeten Haut wenigstens bei geringeren Zusätzen in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis von der Estermenge standen. Das Oberflächenwachstum, das teilweise ein recht beträchtliches war, erreichte aber in keinem Fall jenes der Kulturen mit Dextrosezusatz.

In der rein mineralischen Nährlösung — ohne Ester und Dextrose — erschien es zweifelhaft, ob nicht doch eine sehr geringe Vermehrung eingetreten war, auch wurde nach einer Beobachtungszeit von 23 Tagen festgestellt, daß die Zellen der Oberflächenvegetation zum größten Teil noch lebten, sich in Sprossung befanden und in Würze innerhalb 5 Tagen bei Laboratoriumtemperatur starke normale Oberflächenvegetation entwickelten.

Demnach fand auch in der rein mineralischen Lösung ohne Kohlenstoffzusatz eine, wenn auch nur kümmerliche Vermehrung statt.

Die durch die Versuche dargetane Fähigkeit der angewandten Sproßpilze, Essigester zu assimilieren und eine verhältnismäßig starke Vermehrung der Zellen zu unterhalten, beweisen, daß sie nicht nur wie bekannt Alkohol- und Säureerzeuger bezw. Verzehrer und nicht nur Estererreger, sondern auch Esterverzehrer sind.

Diese Fähigkeit ist, wie die Verfasser richtig bemerken, von praktischer Bedeutung insofern, als die von den Sproßpilzen erzeugten Alkohole, Säuren und Ester unter bestimmten Bedingungen von denselben wieder verzehrt werden, wodurch ihre Vermehrung gesteigert wird, die anscheinend so gefördert werden kann, daß die dabei entstandenen und übrigbleibenden Um-

setzungsprodukte, besonders Alkohol und Säure, wenn auch nicht den Tod, so doch wenigstens Hemmung und schließlich Stillstand der Vermehrung herbeiführen. Prior.

Schönfeld, F. und Himmelfarb, G. Vorsicht bei der Verwendung von Formaldehyd zur Desinfektion (Biertrübung). Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 10, S. 125.

Außer den schon früher von Bode nachgewiesenen Krustenbildungen in Rohrleitungen, welche längere Zeit mit Formaldehyd desinfiziert worden waren, und den bei relativ größeren Formalinzusätzen zur Würze auftretenden Trübungen, sind auch seitens der Praxis bei der Desinfektion von Transportfässern mit Formaldehyd Trübungen im Bier aufgetreten, für welche die Anwendung von Formaldehyd verantworlich gemacht wurde. Die Trübung war in allen Fällen eine milchige und entsteht nach den experimentellen Untersuchungen der Verfasser schon durch Zusatz minimaler Gaben, denn schon solche sind imstande, die Klarheit des Bieres zu beeinträchtigen. Bei ihren Untersuchungen haben die Verfasser auch den Einfluß der Temperatur berücksichtigt und gefunden, daß die Biertrübungen durch Formaldehyd um so eher und stärker auftreten, je niedriger die Temperatur ist, was auf Eiweißfällung hinweist.

Wie intensiv die die Klarheit des Bieres beeinträchtigende Wirkung des Formaldehyds ist, beweist der Umstand, daß schon $^{3}/_{10}$ mg Formaldehydzusatz auf 100 g helles Bier demselben Glanz und Feuer benahm und nach einigen Tagen eine schwache Trübung veranlaßte. Diese Veränderung trat indessen nicht plötzlich, sondern nach einigen Tagen und nur bei 0—1° C ein, während bei 10—15° C der Minimalzusatz von $^{3}/_{10}$ mg Formaldehyd keine Wirkung hervorrief.

Dagegen trat in demselben Bier bei einem Zusatz von $^{8}/_{10}$ mg starke Trübung auch bei höherer Temperatur auf, wenn auch nicht in demselben Maße wie bei tiefen Temperaturen. Die meist aus Eiweiß bestehenden Ausscheidungen erwiesen sich unter dem Mikroskop als kleine, teils einzeln, teils zu zwei und mehr gruppierte Kügelchen.

Weniger empfindlich als das helle Bier ist das dunkle, bei welchem der Minimalzusatz von $^{3}/_{10}$ mg Formaldehyd auch bei tiefer Temperatur einflußlos war; Zusätze von $^{8}/_{10}$—2,4 mg waren bei dunklem Bier bei 10—15° C. ohne Einfluß, bei 0—1° C traten aber auch hier in allen Fällen Trübungen auf.

Die erhöhte Empfindlichkeit der hellen Biere gegenüber den dunklen führen Verfasser auf den höheren Gehalt derselben an gewissen Eiweißstoffen, welche mit Formaldehyd zur Ausscheidung gelangen, eventuell auf eine Änderung des Gleichgewichtszustandes, in welchem sich die kolloidalen Eiweißstoffe befinden, der bei hellen Bieren leichter aufgehoben wird als bei den dunklen auch bei gleichem Eiweißgehalt, zurück.

Bei Temperaturen von 25—30° C nimmt der Grad der Trübung ab; bei lichten Bieren läßt sich die Trübung auch nur in den seltensten Fällen ganz beseitigen, während es bei den dunklen Bieren verhältnismäßig leicht gelingt, die Trübung durch Wärme zu beseitigen. (Ich kann die hohe Empfindlichkeit der lichten Biere bei geringsten Formaldehydzusätzen auf Grund ähnlicher, leider nicht publizierter Versuche, die H. Wichmann auf meine Veranlassung im Jahre 1906 an der österr. Versuchsstation für Brauindustrie ausgeführt hat, bestätigen. Prior.) Prior.

Schönfeld, F. und Hirt, W. Chemische Zusammensetzung von untergärigen Betriebshefen in Beziehung zu dem Verhalten bei der Gärung. Wochenschr. f. Brauerei, 1912, Nr. 12, S. 157 u. Nr. 13, S. 174.

Bezugnehmend auf eine frühere Arbeit von Schönfeld und Krampf (Wochenschr. f. Brauerei 1911, Nr. 14 u. f.) über die chemische Zusammensetzung von obergärigen Hefen und auf die Mitteilungen von Schönfeld im Jahrbuch 1911, S. 86, sowie auf frühere der beiden Verfasser bringen dieselben nun eingehende Mitteilungen über Versuche mit mehreren untergärigen Stellhefen, welche in verschiedenen Brauereien unter ganz bestimmten physiologischen Bedingungen arbeiten und sich dabei zu Hefen von bestimmten Erscheinungsformen entwickelt haben.

Die verwendeten Hefen werden in vier Gruppen geteilt:

I. Gruppe: Hefen mit kurzer Gärdauer (bis zu 8 Tagen) und starker Bruchbildung.

II. Gruppe: Hefen mit mittlerer Gärdauer und mittelguter Bruchbildung.

III. Gruppe: Hefen mit langer Gärzeit und sehr mäßiger Bruchbildung.

IV. Gruppe: Hefen mit langer Gärdauer und schlechter Bruchbildung.

Die chemische Untersuchung der Hefen erstreckte sich auf die Bestimmung des Gehaltes an Eiweiß, Asche und Gesamtphosphorsäure, die physikalische auf spez. Gewicht, Absetzungsvermögen und Flockenfestigkeit (Bruchbildung), die physiologische auf die Feststellung der Triebkraft.

Der Gehalt der Hefen an Eiweiß schwankte zwischen 56,25—67,1 %, an Asche zwischen 5,27—9,08 %, die überwiegende Anzahl der Hefen in Gruppe I enthielt mehr als 8,5 % Asche, die der II. Gruppe annähernd 8 % und darüber, die der III. Gruppe etwa 8 %, während die Hefe der Gruppe IV, es wurde nur eine Hefe untersucht, nur 5,07 %, also einen ausnahmsweise geringen Aschengehalt besitzt. Obgleich Hefen untersucht wurden, welche nicht entsprechende Aschengehalte aufwiesen, scheint nach den Verfassern die Höhe des Aschengehaltes mit der Geschwindigkeit der Vergärung und Bruchbildung einer Hefe zusammenzuhängen in der Art, daß je schneller die Hefe gärt und Bruch bildet, desto höher auch der Aschengehalt zu sein pflegt.

Dagegen steht die Höhe des Eiweißgehaltes mit dem Aschengehalt nicht in Beziehung, auch konnte weder eine Beziehung des Gehaltes der Asche an Phosphorsäure mit der Hefetrockensubstanz, noch eine solche zur

Natur der Hefe, ob rasch oder langsam vergärend, festgestellt werden. Nur bei zwei vergleichsweise mitgeführten Hefen der V. L. B. wurde die schnellgärende gegenüber der langsam gärenden und schlecht klärenden als die aschereichste Hefe mit höherem Gehalt an Phosphorsäure nachgewiesen.

Was die gefundenen spez. Gewichte der Hefen betrifft, besteht, selbst unter Berücksichtigung nicht unerheblicher Abweichungen der Werte zwischen den einzelnen Hefen der nämlichen Gruppe, insofern ein Zusammenhang, als besonders die Mittelzahlen der I. bzw. II. Gruppe wesentlich verschieden von jenen der Gruppe III sind. Die stark bruchbildenden, schnellgärenden Hefen der Gruppe I, ebenso jene der II. Gruppe, besitzen ein niedrigeres spez. Gewicht, während die Hefen der III. Gruppe, also der weniger schnell gärenden und minder guten Bruch liefernden, ein hohes spez. Gewicht ergeben.

Die von den Verfassern vorgenommenen Versuche, die Schnelligkeit des Absetzens der Hefe und die Dichte des Bodensatzes in regelrechte Beziehungen zu bringen, lieferten ein negatives Resultat, obgleich in vielen Fällen, namentlich bei Hefen aus demselben Betrieb, brauchbare Werte gefunden wurden. Dieses negative Ergebnis wird auf den Einfluß von nicht gewollten Faktoren, die bei solchen Untersuchungen im kleinen nicht umgangen werden können, zurückgeführt.

Die Prüfung der Hefen auf Flockenfestigkeit ergab, daß Unterschiede vorhanden sind, doch ließ sich bei der angewandten Prüfungsmethode kein engerer Zusammenhang in bezug auf das Verhalten der Hefen bei der Gärung erbringen.

Die Triebkraft der Hefen steht im großen und ganzen zu ihrem Eiweißgehalt in Beziehung; es steigt und fällt die Triebkraft mit dem Eiweißgehalt, dagegen ergeben sich keine Beziehungen zwischen dem Gärvermögen bzw. Vergärungsgrad des Bieres und der Triebkraft.

Als günstigste Temperatur für die Entwicklung der Triebkraft bei den möglichst gleich vorbehandelten Hefen wurden 35^0 gefunden, denn sowohl bei 30^0 als auch bei 40^0 war die Triebkraft geringer.

Unter Berücksichtigung der chemischen Zusammensetzung des Brauwassers schließen die Verfasser über die Beziehungen zwischen diesem und der Hefebeschaffenheit bzw. dem Ausfall der Gärung, daß Brauwasser, in welchen das Kalzium- bzw. Magnesiumkarbonat das Kalziumsulfat bzw. die Sulfate überwiegt, die Gärung beschleunigt und die Bruchbildung begünstigt, während Wasser, in welchem der Sulfatgehalt den Karbonatgehalt übersteigt, die Gärung verlangsamt und die Bruchbildung beeinträchtigt.

Die bei einigen Hefen gefundenen entgegenstehenden Ergebnisse erklären Verfasser durch andere Umstände, wie zu große Gärgefäße u. dergl. Auch kommt es, wie die Versuche mit Hefen der Hochschulbrauerei ergaben, sehr auf die Anlage der Hefen zur Bruchbildung an und können solche Hefen auch rasch verlaufende Gärung und gute Bruchbildung bei Verwendung von an Sulfaten reichem Brauwasser bewirken.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in folgender Schlußzusammenfassung niedergelegt: die bruchbildenden Hefen unterscheiden sich von den keinen oder schlechten Bruch liefernden: a) durch höheren Eiweißgehalt; b) durch höheren Gehalt an anorganischen Bestandteilen; c) durch höheren Gehalt an Phosphorsäure; d) durch höheren Gehalt an Magnesia; e) durch höhere Triebkraft; f) durch niedrigen Gehalt an Glykogen; g) durch höheren Gehalt an löslicher Phosphorsäure; h) durch höheren Gehalt an löslicher anorganischer und organischer Phosphorsäure; i) durch höheren Gehalt an löslicher Magnesia. Prior.

Moufeng, Ed. Über Wirkungen von Formalin auf Bier. Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 13, S. 173.

Die Beobachtungen, welche Verfasser bei der Verwendung von Formalin zur Desinfektion veröffentlicht, bestätigen die von F. Schönfeld und G. Himmelfarb, bringen aber auch noch einige weitere neue Gesichtspunkte.

Moufeng fand nämlich, daß sowohl die Darrführung als auch das Maischverfahren einen wesentlichen Einfluß auf die Wirkung der Formaldehydreaktion des Bieres auszuüben vermögen, daß das aus Malz mit höherer Abdarrung erzeugte Bier, ebenso wie jenes, bei welchem das Malz vor der Vermaischung eingeteigt oder, wie man jetzt sagt, vorgemaischt wurde, gegen Formaldehyd unempfindlicher wurde.

Verfasser, der einen Versuch mit Pepton-Witte machte, dessen Lösung selbst in sehr großen Verdünnungen durch Formaldehyd zersetzt wurde, neigt der Ansicht zu, daß die Formaldehydreaktion einen Hinweis auf unvollständig abgebaute Eiweiße in Würzen und Bieren darstellt und als solche Verwendung finden könnte. Prior.

Will, H. Die biologische Untersuchung von Farbebier, Farbebierextrakten und Farbeextrakten. Zeitschr. f. das gesamte Brauwesen 35, 1912, Nr. 12.

Nachdem über die biologische Untersuchung jener Erzeugnisse, welche zum Färben von Bier zugelassen sind, sich bislang keine Mitteilungen vorfinden und die auf ältere Untersuchungen gestützte Annahme, daß die Farbebiere aus hochgeröstetem Farbmalz ihres Gehaltes an Röstprodukten halber der Entwicklungsfähigkeit von Organismen entgegenstehen, die aber nach den vorliegenden Erfahrungen in der Allgemeinheit nicht zutreffen und daher einer Nachprüfung bedürfen, unterzog H. Will 54 im Handel vorkommende Färbepräparate einer eingehenden Prüfung unter teilweise neuen Gesichtspunkten.

Die zum Färben des Bieres bestimmten Produkte scheidet Verfasser in drei Gruppen, von welchen zwei die durch Gärung erzeugten betreffen. In die erste Kategorie gehören die auf übliche Weise aus Gemischen von Malz mit Farbmalz bereiteten hochprozentigen Würzen, welche den natürlichen Extrakt- und Alkoholgehalt, der im allgemeinen nicht hoch ist, besitzen, die eigentlichen Farbebiere, während in die zweite Gruppe die Farbebier-

extrakte fallen, das sind jene Farbebiere, die nach der Vergärung eingedickt wurden, wodurch der Extraktgehalt und damit die Färbekraft erhöht, der Alkoholgehalt aber auf eine geringe Menge reduziert wird oder auch ganz fehlt.

Die dritte Gruppe umfaßt die unvergorenen Farbmalzextrakte, welche als Farbeextrakte bezeichnet werden. Die Farbebiere kommen pasteurisiert und nicht pasteurisiert in den Handel. Will weist einleitend darauf hin, daß sowohl die Farbebierextrakte als auch die Farbeextrakte infolge ihrer Herstellungsweise eigentlich frei von lebenden Organismen sein müßten, daß aber auch der hohe Gehalt an Röstprodukten sie nicht völlig gegen das Aufkommen von Organismen schützt, wenn sie einer nachträglichen Infektion beim Abfüllen oder in den Fässern ausgesetzt sind. Die Farbeextrakte schimmeln erfahrungsgemäß auch leicht. Nachdem Verfasser auf die Schwierigkeit der Prüfung dieser Produkte infolge ihrer dunklen Färbung und der dadurch bedingten Undurchsichtigkeit, welche Trübungen u. dergl. nicht erkennen lassen, hingewiesen und darauf aufmerksam gemacht hat, daß beim Verdünnen mit Wasser zur Behebung dieses Übelstandes gewisse Trübungen verschwinden bezw. nicht erkannt werden, und die Bildung von Bodensätzen sowie das Erkennen derselben durch die Dickflüssigkeit der Produkte vielfach verhindert wird, also die Merkmale entfallen, welche zur Begutachtung der Haltbarkeit gewöhnlicher Biere dienen, werden zunächst die normalen Bestandteile der Absätze aufgeführt. Diese sind oxalsaurer Kalk, welcher sich nicht immer, jedoch sehr häufig in großen Kristallen in Oktaederform, in der Regel jedoch in kleinen Kriställchen, die zuweilen zu Konglomeraten angehäuft sind, vorfinden, dann Hefezellen und Eiweißausscheidungen. Die Hefezellen sind in den Farbebieren, je nachdem dieselben pasteurisiert sind oder nicht, entweder tot oder lebend, während bei den Farbebierextrakten normalerweise nur tote Hefezellen vorhanden sein sollten. Die Anwesenheit von lebenden Hefezellen in pasteurisierten Farbebieren oder Farbebierextrakten führt Will ebenso wie lebende Torulazellen und Bakterien auf nachträgliche Verunreinigungen zurück.

Aus den erhaltenen Resultaten ergibt sich, daß sich unter den untersuchten, zum Färben des Bieres bestimmten Erzeugnissen nur sehr wenige befinden, die frei von entwicklungsfähigen Organismen waren. Es befanden sich darunter auch schlecht verzuckerte Produkte, welche Stärke ausgeschieden hatten und daher erfahrungsgemäß für Bierschädlinge einen guten Nährboden abgeben.

Am häufigsten wurden in den Bieren und Extrakten Stäbchenbakterien, darunter die großen Milchsäurestäbchen und Essigsäurebakterien, gefunden, von welchen die letzteren auch bei der Färbung von pasteurisiertem Bier zur Entwicklung kamen. In wenigen Fällen, die als solche bedenklich bezeichnet werden, fanden sich reichliche und in einem Fall enorme Mengen von Pediokokken. Ferner wurden häufig wilde Hefen, Torulaarten und Mykoderma

gefunden, während die sich häufiger in den Absätzen vorfindenden Kulturhefen weniger oft zur Entwicklung kamen. Auf einer Probe bildete Willia anomala eine Haut und in zwei Proben trat Schimmel, darunter eine Oidiumart, auf.

Will gelangt daher zu der Ansicht, daß der biologischen Kontrolle der Farbebiere und Extrakte eine größere Aufmerksamkeit zuzuwenden sei. Über die Art der Untersuchung, bezüglich deren Einzelheiten auf das Original verwiesen wird, sei folgendes bemerkt:

1. Die Haltbarkeitsprüfung wird in der bei Bier üblichen Weise bei Zimmertemperatur und im Falle die Frage nach der Haltbarkeit in heißen Klimaten gestellt ist, bei konstant hohen Temperaturen (bis zu 30° und darüber) durchgeführt. Die Beobachtungsdauer in dicht geschlossenen, anfangs teilweise unter Watteverschluß aufgestellten Flaschen beträgt 14 Tage, was unter Berücksichtigung des Umstandes, daß in den Farbebieren und Extrakten die Vermehrung der Organismen meist langsamer erfolgt als in gewöhnlichen Bieren, aber kurz erscheint, und darf daher die Haltbarkeit der Farbeerzeugnisse nur unter sich und nicht mit jener der normalen Biere verglichen werden. Die Erfahrungen des Verfassers haben indessen die eingehaltene Beobachtungszeit als genügend erwiesen. Die Haltbarkeit der untersuchten Proben war durchschnittlich eine gute, da eine außergewöhnliche Vermehrung der Organismen nicht stattfand und die Absatzbildung gering war.

2. Der richtige Nachweis der Entwicklungsmöglichkeit der vorhandenen Organismen in Mischungen von Bier mit den betreffenden Farbeprodukten innerhalb jener Grenzen, welche zur Erzielung einer bestimmten Bierfarbe erforderlich sind, wurde in folgender Weise geliefert. Zu einem $^1/_2$ Liter hellen pasteurisierten Bieres aus einer Münchner Brauerei wird soviel des Farbeproduktes zugefügt, bis die Mischung die Farbe des gewöhnlichen Münchner Sommerbieres, entsprechend Farbe 7 des Brandschen Kolorimeters, zeigt. Ferner wird eine $^1/_2$ Liter-Flasche mit sterilem destilliertem Wasser ebenfalls mit dem Farbeprodukt bis zu Farbe 7 nach Brand versetzt. Beide Flaschen werden geschlossen gewöhnlich bei Zimmertemperatur aufgestellt und während 14 Tage beobachtet.

3. Bei Anwesenheit größerer Sarcinamengen werden einige Tropfen der Farbesubstanz in 5 ccm Bettgeslösung eingeimpft.

Bei der Begutachtung der Farbeprodukte wird die Menge, die zur Erreichung der angegebenen Bierfarbe nötig war und der Infektionsgrad, hauptsächlich aber die Art der verunreinigenden Organismen und die Schnelligkeit ihrer Vermehrung während der 14tägigen Beobachtungsdauer berücksichtigt.

Wilde Hefen, Milchsäurestäbchen und Sarcinen werden als besonders bedenklich für das zu färbende Bier betrachtet.

Prior.

Euler, H. und Ohlsen, H. Über die Wirkungsweise der Phosphatese. Zeitschr. f. phys. Chem. 76, 1912, S. 468.

Die Verfasser suchen in dieser Arbeit zu erfoschen, durch welche Faktoren die Veresterung der Kohlehydrate zu dem Phosphorsäureester bedingt wird. Sie fanden, daß die Geschwindigkeit der Veresterung abnimmt, wenn die Phosphatmenge steigt. Die Phosphatbindung ist zu Anfang der Gärung eine größere als später. Wenn ein gewisser Überschuß an dem Phosphat vorhanden ist, so wird die Esterbildung gehemmt, wird aber ein Estersalz zugesetzt, so wird die Phosphatbindung erhöht. Das wirksame Enzym wird Hexosenphosphatese genannt. Das Natriumsalz des Kohlehydratphosphorsäureesters wird durch Zymin bzw. durch Hefepreßsaft hydrolysiert. Lebende Hefe vermag aber die Hydrolysierung nicht durchzuführen, da das genannte Salz nicht in die lebende Zelle einzudringen vermag. Läßt man aber eine Dextroselösung (20 $^0/_0$) durch lebende Hefe vergären, so wird die Reaktionsgeschwindigkeit durch Zusatz des Natriumsalzes des Kohlehydratphosphorsäureesters verdoppelt. Das Salz wird hierbei nicht verändert. Das Salz ist hierbei 10mal so wirksam als freies Natriumphosphat. Da das Salz des Esters hierbei gar nicht weiter angegriffen und zersetzt wird, scheint es die Rolle eines Katalysators zu spielen. Zikes.

Paine, S. G. Die Permeabilität der Hefezelle. Proc. Roy. Soc. Bd. 84, 1911, S. 289.

Anfängliche plasmolytische Versuche, die angestellt wurden, ließen es wahrscheinlich erscheinen, daß die Membran der Hefezelle für anorganische Salze im allgemeinen impermeabel ist, daß sie aber Substanzen wie Alkohol, Azeton, Harnstoff den Durchtritt gewährt. Später wurde durch exakte Versuche erkannt, daß Natriumchlorid, Ammoniumsulfat, Kupfersulfat, Natriumphosphat, Natriumhexosephosphat, Natriumarseniat von Hefe aus Lösungen von mäßiger Konzentration aufgenommen werden. Über die Einzeluntersuchungen sei auf das Original verwiesen. Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Die Gärung der Brenztraubensäure und Oxalessigsäure als Vorlesungsversuch. Ber. d. deutsch. chem. Ges. Jahrg. XXXXIV, 1911, Heft 13.

Unter dem Namen „zuckerfreie Gärungen“ haben Neuberg und seine Mitarbeiter die merkwürdige Erscheinung beschrieben, daß eine ganze Reihe nicht zu den Zuckern gehörige Substanzen mit Hefe in lebhafte „Gärung“ geraten. Verfasser waren bestrebt, dieses Phänomen im Laufe einer Vorlesung zu zeigen. Sie wählten hierzu die Vergärung von Brenztraubensäure und Oxalessigsäure durch Hefe und benutzten 1 $^0/_0$ Lösungen derselben in Schrötterschen Gärungskölbchen, welche sie nach Aufsetzen eines längeren Glasröhrchens am offenen Schenkel in ein mit Wasser gefülltes Becherglas bei 40^0 einsenkten. Nach 20—25 Minuten ist der geschlossene Schenkel zu zirka

$^3/_4$ bei Verwendung von Brenztraubensäure mit Gas gefüllt. Es wird ferner beschrieben, wie die beiden entstandenen Gärprodukte weiter untersucht werden. Das diese Gärung verursachende Enzym wurde Carboxylase genannt. Die Wirkung der Carboxylase besteht in einer Zerlegung der Brenztrauben- und Oxalessigsäure in Azetaldehyd und CO_2. Zikes.

Osterwalder, A. Über die Bildung flüchtiger Säure durch Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, 1912, S. 481.

Läßt man Hefe bei Luftzutritt gären, so beginnt nach einiger Zeit neuerliches Wachstum, wobei flockige oder glatte Auflagen neugebildeter Hefe entstehen. Bleibt hierbei die Hefe, z. B. Trauben- oder Obstweinhefe, 4—5 Monate stehen, so bildet sich 1,8 ‰ flüchtige Säure, wovon ein kleiner Teil während der Gärung, der größere erst nach derselben entsteht. Die Bildung der flüchtigen Säure nach der Gärung hängt mit dem Leben der Hefe innig zusammen und ist nicht eine einfache Oxydation des während der Gärung entstandenen Alkoholes.

Verfasser meint, daß die nachträglich gebildeten Hefezellen Ursache dieser Säurebildung sind. Zikes.

Naumann, C. W. Epicoccum purpurascens und die Bedingungen seiner Pigmentbildung. Hedwigia, Bd. LI, 1912, S. 135.

Verfasser hat sich mit der Farbstoffproduktion von Epic. purp. beschäftigt, welcher Pilz einen roten Farbstoff bildet, und betont, daß hierzu vorzüglich Magnesiaverbindungen in bestimmten Konzentrationen notwendig sind. Bei anorganischer Stickstoffnahrung, wie Nitraten, wird die Farbstoffproduktion durch Monosen, Biosen (Maltose) und auch durch gewisse Polyosen (Stärke) beschleunigt. Nitrate (KNO_3), $Mg(NO_3)_2$, $Ca(NO_3)_2$ erweisen sich als viel besser wie Amine und Ammoniumverbindungen. Sind beide Gruppen von Stickstoffquellen vorhanden, so ist die Farbstoffproduktion eine schwächere, da der Pilz vorzüglich die Stickstoffnahrung aus Ammoniumverbindungen usw. bezieht und die Nitrate, wenigstens anfänglich, nicht als Stickstoffquellen benutzt. Die Alkalität des Nährbodens hebt die Farbstoffbildung. Der Farbstoff wird im Dunkeln nicht zur Entwicklung gebracht. Auch in N- oder H-Atmosphäre, aber meist in CO_2-Atmosphäre wurde die Farbstoffproduktion beobachtet. Die Versuche wurden sowohl in Nährstofflösungen wie auch auf den entsprechenden Gelatinenährböden ausgeführt. Die chemische Natur des Pigmentes konnte nicht festgestellt werden.
Zikes.

Spieckermann, A. Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze. I. Der Abbau des Glyzerins und die Aufnahme der Fette in die Pilzzelle. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- u. Genußmittel, **23,** 1912, S. 305—331 m. 3 Taf.

Die unter Verwendung eines Penicillium glaucum eingeleiteten Versuche wurden teils in Lösungen, teils in Kieselgurkulturen, teils auf Fett-Agar

durchgeführt. Das bei der Fettspaltung freiwerdende Glyzerin wird im Entstehen zersetzt, desgleichen verschwand es innerhalb 8 Tagen, wenn es in Mengen von 5% einer wässerigen Lösung von 2‰ KH_2PO_4 + 1‰ $MgSO_4$ + 5‰ $NaNO_3$ oder $(NH_4)_2SO_4$ hinzugefügt und diese in flacher Schicht aufbewahrt wurde. Quantitative Bestimmungen ergaben, daß 25—30% für plastische Zwecke verbraucht, der Rest aber glatt veratmet wurde. Da die Fettzersetzung in Lösungen zu langsam verläuft, wurden die Fette sorgfältig mit geglühter Kieselgur verrieben und diese mit der Nährlösung angefeuchtet. In solchen Kulturen zeigten die Ammon- und Kalzium- (nicht Kalium- und Natrium-) Seifen der Myristin-, Eruca-, Laurin-, Palmitin- und Ölsäure deutliche Abnahme. Zur Entscheidung der Frage, ob die Fettsäuren in freiem Zustande oder als Salz aufgenommen wurden, dienten Plattenkulturen, die unter Verwendung eines 3-prozentigen den Nährlösungen entsprechenden, vor dem Erstarren mit der zu prüfenden Substanz versetzten Agars hergestellt wurden. Der Durchtritt erfolgt wahrscheinlich meist als Seife, vielleicht auch als freie Säure. Geprüft wurden außer den schon genannten noch die Arachin- und die Stearinsäure, ferner Tributyrin, Triolein, Erdnuß-, Rüb-, Baumwollsaat-, Mandelöl, Butter, Talg u. a. Bei den wasserlöslichen Säuren fand Aufhellung, andernfalls Seifenbildung statt. Besonders klare Bilder ergaben sich, wenn als Stickstoffquelle Ammonsulfat benutzt wurde, was durch die beigegebenen Photogramme z. T. veranschaulicht wird.

Über Abbau und Assimilationswert der Fettsäuren, über Spaltung der Glyzerate und Änderung der Konstanten der wichtigsten Fette soll später berichtet werden. Löhnis.

Trillat, A. et Fouassier. Influence de la nature des gaz dissous dans l'eau sur la vitalité des microbes. Compt. rend. de l'Acad Paris, **154**, 1912, S. 786—788.

In sterilisiertem, destilliertem Wasser wurde das Wachstum der in geringer Menge eingeimpften Keime von B. prodigiosus, coli und typhi dann sehr gefördert, wenn die aus mit B. proteus infizierter Bouillon entweichenden Gase hinzugeleitet wurden. Die Verfasser betonen besonders die Wichtigkeit dieser Beobachtung für Entwicklung und Nachweis von Typhusbakterien im Wasser. In anderen Richtungen dürften diese Befunde jedoch ebenfalls Beachtung und Nachprüfung verdienen. Löhnis.

Kufferath, H. Note sur les tropismes du Bact. Zopfii Kurth. Annal. de l'Instit. Pasteur, t. 25, 1911, S. 601.

Verfasser hat die eigentümliche Wachstumserscheinung des Bact. Zopfii in senkrecht stehenden Gelatinekulturen, in schief nach aufwärts wachsenden Fäden zu wachsen, studiert, welche bisher in der verschiedensten Weise ausgelegt wurde, so von Boyce und Evans als Geotropismus, von Beijerinck als Thermotropismus, von Zikes als Geotaxis, von Jakobsen als Elasticotropismus. Er gelangt auf Grund seiner Versuche zur Ansicht, daß die

genannte Eigentümlichkeit auf Elasticotropismus beruhe und die Wachstumsrichtung der einzelnen Bakterienfäden sehr unter dem Einfluß von Druckspannungen der Gelatine stehe. Zikes.

Mencl, E. Nachträge zu den Kernstrukturen und Kernäquivalenten. Arch. f. Protistenkunde XXI, 1911, S. 255.

Verfasser hat seinerzeit bei Microc. butyricus und gewissen Sarcinen einen Kern nachzuweisen versucht, ist aber vielfach angegriffen worden. Hauptsächlich wurde behauptet, daß die fraglichen Kerne nicht die charakteristischen Farbenreaktionen zeigen, und daß sie sich gegen die Verdauungsenzyme anders verhalten, wie die Kerne anderer Pflanzen. Verfasser sucht beide Bedenken zu entkräften und berichtet in vorliegender Arbeit über neue, an nicht näher benannten Wasser- und Bodenbakterien ausgeführte Kernstudien. Zikes.

Kurono, K. Ein Asparagin spaltendes Enzym der Hefe. Journ. of the College of Agricult. Imp. Univ. Tokyo I, 1911, S. 295.

Verfasser konnte sowohl in Bierhefe wie auch in Sakehefe ein Asparagin spaltendes Enzym auffinden, welches Ammoniak abzuspalten vermag. Dasselbe wirkt nur spezifisch auf Asparagin, nicht aber auf Leucin und andere Aminosäuren. Es läßt sich durch Wasser oder eine schwache Sodalösung der Hefe entziehen. Zikes.

Euler, H. und Ohlsén, H. Über den Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Phosphatese. Bioch. Zeitschr. 37, 1911, S. 313.

Verfasser fanden, daß die Wirkung des synthetisierenden Enzymes, der Phosphatese, durch Temperaturen zwischen 30 und 40^0 wesentlich unterstützt und gehoben wird. Nach Ansicht der Verfasser wirkt also die höhere Temperatur ähnlich wie ein Aktivator oder ein Coenzym. Zikes.

Dox, Arthur und Golden, Rup. Phytase in niederen Pilzen. Journ. of biolog. Chim. 10, 1911, S. 183.

Verfasser haben eine Reihe von Aspergillusarten auf das Vorkommen von Phytase untersucht und den Aspergillus niger am kräftigsten mit diesem Enzyme ausgestattet gefunden. Sie konstatierten, daß dieses Enzym in allen Fällen, sowohl intra- wie auch extrazellular zur Wirkung kommt. Zikes.

Rubner, M. Über die Beteiligung endozellularer Fermente am Energieverbrauch der Zelle. Sitzungsber. d. königl. preuß. Akad. d. Wissensch., Berlin 1912.

Nach Untersuchungen des Verfassers entwickeln Hefen nur dann Wärme, wenn sie in Zuckerlösungen wachsen. Die entwickelte Wärme entspricht nur dem Wärmeeffekt, welcher sich aus der alkoholischen Gärungsgleichung ergibt. Zikes.